

109 ✓
284

EMBRYOLOGIA

284

VOLUME 1 - No. 1

284

TUNEO YAMADA:

REGIONAL DIFFERENTIATION OF THE ISOLATED
ECTODERM OF THE *TRITURUS* GASTRULA
INDUCED THROUGH A PROTEIN EXTRACT

BIOLOGICAL INSTITUTE, SCIENCE FACULTY
NAGOYA UNIVERSITY

1950, 12

済

REGIONAL DIFFERENTIATION OF THE ISOLATED ECTODERM OF THE *TRITURUS* GASTRULA INDUCED THROUGH A PROTEIN EXTRACT

TUNEO YAMADA

Biological Institute, Science Faculty, Nagoya University, Nagoya, Japan

INTRODUCTION

The morphogenetic response of the presumptive ectoderm of the amphibian gastrula to chemical stimuli has been studied extensively from many angles. Emphasis has been laid often exclusively on the neuralization of the ectodermal cells. A reflection of the normal course of development shows us however that here the neuralization occurs intimately connected with its regional characterization, giving rise to a organized system of neural tissue, in which every component has its specific history and destiny. Further it might be reminded that the neuralization is nothing but a componental process of the development which is going on in the whole ectoderm, or rather in the whole germ. In this two aspects the process called neuralization stands in organizational relationship with its componental processes on one side, and with the whole system of processes, of which it is a component, on the other.

In this paper experiments will be published in which the morphogenetic response of the isolated presumptive ectoderm of the early gastrula of *Triturus pyrrhogaster* to an abnormal inductor was studied. Emphasis is laid here on the organizational relationships of the induced processes. The first problem to be answered was: Is there any sign of regional characterization in the structure induced by the abnormal inductor? Affirmative answer being obtained conditions were sought in which the inductive power of the implant is reduced, and the mode of regional differentiation of the ectoderm in response to such implant was studied, with the aim to analyze the relation between the regionality of induced differentiation and the intensity of the induction.

In experiments to be reported here coagulum of a protein extract made from the ox muscle tissue after the method described by PURR (1935) was used as implant. That this extract has a strong inducing effect on the isolated ectoderm if its coagulum was implanted with iron powder, was reported earlier (YAMADA 1942). Analysis of the chemical group of the substance which is responsible for the induction will be reported in another paper. Here it will be suffice to add that SH-group which is detectable in larger quantity in the protein cannot be the main inducing factor as it seemed to be the case in the earlier phase of investigation (YAMADA 1942), and the attempt to inactivate the protein through ribonuclease has not brought clear results so far.

The investigation is aided by the Science Research Expenditure of the

Department of Education. Acknowledgement is due to the support specially organized by the Shinshokai-Foundation, Mr. MASAO OKAYA and Mr. TOSHIO INOUE.

I wish to express my thanks to Prof. TADAO SATO for his valuable criticism and aids and to Dr. JURO ISHIDA for his suggestion of the work of PURR. Acknowledgement is due to Prof. SEIZO KATSUNUMA who provided us with some chemicals, to Dr. TADAO HAMA who conserved a part of the material during the war. Further I am grateful to Mr. TAKEHIKO NAKANE and other members of the Institute for their aids and suggestions.

MATERIAL AND METHOD

PREPARATION OF THE PROTEIN-IMPLANT. The extraction of the protein was made after PURR(1935). Fresh muscular tissue of ox was freed from fat and nerve and finely ground. 50 g. of the ground tissue were kneaded for 10 minutes with 15 cc. of 0.25% NaCl. Two volumes of distilled water were added. After mixing the mass was filtered with suction. The residue was kneaded thoroughly, adding gradually M/10 Na_2HPO_4 up to a volume of 80 ccm. The mixture was shaken *ca.* three hours and centrifuged. Here obtained supernatant fluid was used as the implant after coagulation and drying.

a) Pr. I. 4 cc. of the supernatant fluid were taken in a petri dish of 4.1 cm. diameter and put in a water bath adjusted at 80° C. for three minutes. The white coagulum formed was washed gently and thoroughly in distilled water. A square plate of 7 mm. \times 7 mm. \times 2 mm. was cut out of the coagulum in the water and transferred on a glass plate, and after removal of excess water, dried in an electric heating apparatus at 80° C. for 10 minutes, then the protein plate was reversed so that its original inner surface was now exposed to the dry air. After 3 minutes drying in this condition (80° C.), the piece was put in HOLTFRETER solution. It was a opaque white coagulum and very easy to manipulate with metal instruments. It adhered intensively to the inner surface of isolated ectoderm if applied to it. The coagulum in this condition was called Pr. I and used in the experimental series I.

b) Pr. II. The implant for the experimental series II and III was obtained through further drying: a disc of Pr. I (of the original size) was transferred from HOLTFRETER solution on a glass plate, perfectly freed from the adhering water and dried for 3 minutes in the heating apparatus at 80° C. So prepared the coagulum was semi-transparent in HOLTFRETER solution, and somewhat harder than the Pr. I.

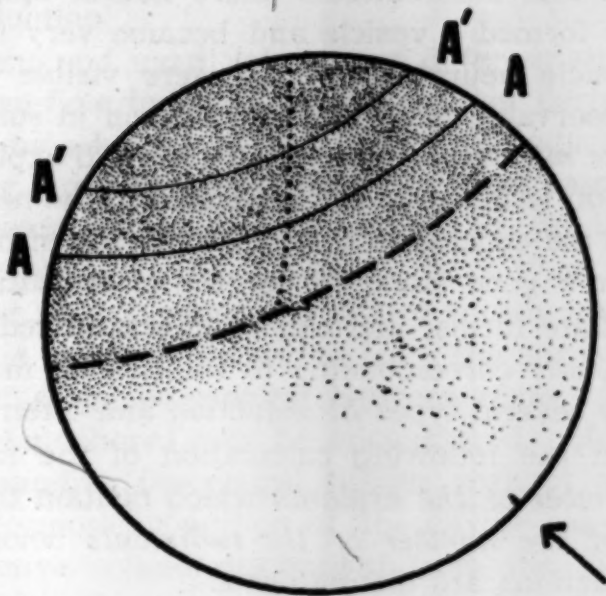
c) Pr. III. The implant for the experimental series IV was obtained by drying an original piece of Pr. I. 6 minutes under the same condition. It was perfectly transparent in HOLTFRETER solution, harder than Pr. II, and showed the least adhesion to the internal surface of the ectoderm.

OPERATION AND CULTIVATION. A piece of the protein coagulum so obtained was enclosed in two pieces of the presumptive ectoderm of the early gastrula of *Triturus pyrrhogaster*. The size of the disc-shaped implant varied from $300 \times 300 \mu^2$ to $500 \times 500 \mu^2$ according to that of the isolated ectoderm. The gastrulae were operated on during the first phase of the blastopore formation: from the stage with the pigmented groove till that with the crescent-shaped blastopore. The explant was taken mostly from the region designated as A'-A' in fig. 1. A smaller part of the explants was taken from A-A area. No difference was found in the outcome. Therefore no distinction will be made between both sorts of the explants in the following. All explants of the control series were taken from the A-A area.

Fig. 1. The early gastrula of *Triturus* in profile.

↑ shows the position of the first sign of the blastopore.

A-A and A'-A': the area of isolated ectoderm.



In the experimental series I, II and IV a small quantity of iron powder was attached to the surface of the protein-implant before the operation.

The explant was operated and cultured under the sterile condition. As the medium HOLTGRETER solution was used exclusively. The explant, from which the implant was extruded within 2 days of operation, was excluded from the further consideration. After culturing at room temperature for seven to fourteen days, the explant was fixed in BOUIN, sectioned at 12 μ , stained in borax carmine and "picro-blauschwarz" or hematoxylin and "picro-blauschwarz."

EXPERIMENT

I. CONTROL SERIES: CULTURE OF ISOLATED PRESUMPTIVE ECTODEM.

The presumptive ectoderm was isolated from the early gastrula of *Triturus pyrrhogaster* and cultured in HOLTGRETER solution for seven to fourteen days at the room temperature. The isolates were taken from the field designated as A-A in fig. 1.

Of 113 in section examined isolates of this series 67 originated from single piece of the ectoderm, while the remainings were derived from two pieces fused together with their original inner surface faced each other. Regardless the difference in operation all isolates developed into the atypic epidermis with more or less conspicuously wrinkled surface (fig. 2, pl. 1). Histological picture of such "atypic" epidermis conforms well with the description of the earlier authors (HOLTGRETER '33a, '33b, '38; BORDZIRLOWSKAJA '38).

II. EXPERIMENTAL SERIES 1.

In this series a piece of Pr. I (cf. p. 2) with iron powder was wrapped with two pieces of explanted presumptive ectoderm from the early gastrula of *Triturus pyrrhogaster*. Two to three days after the operation in ca. 70 % of explants one to several small neural plate-like black areas were observed. In the following days most of them disappeared perfectly within the epidermal folds which had developed to surround them, while some of them remained on the

surface and differentiated there neural epithelium. Often a part of the epidermis formed a vesicle and became very thin and transparent. Then within the vesicle neural structures were visible from without. Melanophores were also observable from the fifth day on in some of the explants.

The microscopic study. Of 138 valid explants 133 show inductive effect. The induction is however not restricted to the neural one. Detailed examination has led to the conclusion that several types of inductions can be distinguished which furnish a good standard for the classification, in spite of the presence of intermediate forms, and can be characterized with definite morphological criteria, mostly corresponding to the normal morphogenesis. One explant contains usually several types of induction and often some rudiments of one type. However in the following calculation of the frequency of an induction-type only *the number of the explants* which contain the induction type will be considered, but *not the number of the rudiments* belonging to the type. Following types of inductions are distinguished:

a) *Eye-type.* This type of induction is distinguished from the brain through the following criteria: (1) Occurrence of extremely elongated nuclei (axial ratio: 1/6 to 1/8) which are packed together in dense layers; (2) A translucent appearance of the cytoplasm; (3) Accumulation of pigment or differentiation of the tapetum.

The retina may be represented by an irregularly folded layer or a compact sphere devoid of an internal cavity. The accumulated pigment has the tendency to lie centrally in the induced eye-rudiment surrounded by the retina (fig. 11, pl. 2) or to surround the retina (fig. 8, pl. 2). Only exceptionally the normal condition of an optic vesicle is attained (fig. 9, pl. 2).

The eye-type tissue is found often forming a common complex with the brain-type (52 out of 72 cases), but also as an independent structure (15 cases). Very striking and at the same time suggestive is the fact that if the optic and brain tissues occur in the same explant the former often lies nearer to the protein, than the latter (40 out of 52 cases, fig. 4, pl. 1, fig. 9, pl. 1), and is mostly attached to the implanted protein with a large contact surface (fig. 4, pl. 1, fig. 7, pl. 2). The independent eye-rudiment is also found in most cases in the vicinity of the protein. Significance of this observation will be discussed later. In seldom cases (3) the eye-rudiment is accompanied by the lens, which can be enclosed within the formor.

Although in above cases the optic character of the rudiment is not to be doubted, in some special cases transitional forms are encountered which lead to other types of induction. There seem to be two directions in such transformation: One leading to the brain-type and the other to the pigment-vesicle. In the first form of transformation the cytoplasm acquires more and more pigment granules, which distribute diffusely within it, while the tapetum becoming more and more inconspicuous to vanish altogether in extreme cases. In the second course of transformation the retinal cells reduce its characteristically high axial ratio without losing its cytoplasmic transparency, and the tapetum remains very conspicuous often differentiating vacuole within it. The extreme case is the so-called pigment-vesicle, i.e. a vesicle of lower columnar epithelium, with

transparent cytoplasm and centrally localized pigment. This transformation is paralleled by a considerable size reduction.

b) *Brain-type*. The most frequent and most voluminous differentiation obtained in this series. Besides the eye-type induction it is the main derivatives of the observed neural plate. The morphology of the brain-type induction is not uniform and comprises also very irregular structures. In most cases it is a spheroidal body, whose wall is composed of a multi-layered or uni-layered neural epithelium with a centrally lying cavity (fig. 2, 4, pl. 1; fig. 9, 10, pl. 2; fig. 17, pl. 3). There may occur however several separate cavities within one body. In most cases this type of induction is perfectly delimited from the surrounding epidermis with more or less defined space developing between them. In this space mesenchymous cells with melanophores may be encountered. However the occurrence of a wide cavity surrounding the neural tissues without a trace of mesenchyme shows that the endosmotic condition of the cavity cannot be wholly ascribable to osmotically active colloid discharged from the differentiating mesenchyme (cf. WAGNER 1950). In some cases epiphysis-like structure is attached to the brain on its "dorsal" side, i.e. opposite to the side from where the induction presumably occurred (fig. 2, pl. 1). Further fig. 10, pl. 2 shows one of many cases where the fore-brain-like condition is attained with accompanying nose-type rudiment. In no case induction of a long stretched spinal cord is ascertained. Only one case shows a structure, which somewhat simulates the medulla oblongata. All the data suggest that the brain-type inductions here obtained are predominantly of fore-brain nature.

c) *Nose-type*. In this type of induction the neuralized cells form a more or less spherical body which is not perfectly detached from the original ectodermal layer. A small cavity is formed within the body which is communicated to the exterior through a pore comparable with the normal nasal opening. This type of induction occurs often in close association with the brain or eye, but also isolated from them within the epidermis underlain by the protein. There seems to be at least two ways of gradual transformation of this type to the other types of Induction; (1) Diminution of the size paralleled by the reduction and subsequent vanishment of the cavity and opening; (2) Acquirement of a larger separate cavity within the spherical main body accompanied by successive enlargement of the latter. The first form of the transition leads to a simple thickening of the epidermis, and the second type of transition to the brain-type induction.

d) *Lens-type (Lentoids)*. The lens vesicle-like formation occurs frequently in the explant. The epithelium is arranged more or less regularly including or not including a central cavity. In some cases one side of the epithelial wall is thickened simulating the beginning of the fiber differentiation in the normal lens. However in no case definite lens fibers are differentiated. In some cases the vesicle does not form a perfect sphere, but a more or less elongated ellipsoid. Topographical relation with the surrounding tissue and implants varies considerably. Of 24 lentoids obtained in this series, three are found attached to the eye, two to the brain, one to the pigment-vesicle, three attached to both the protein and induced structures (eye or brain) (fig. 16, pl. 3). 15

remaining lentoids are differentiated at or near the surface of the protein implants (fig. 5, 6, pl. 1). The case reproduced in fig. 5 deserves special attention. Here through implantation of a sticky membrane of protein coagulum (Pr. I) five lentoids are induced, which adhere intimately to the protein, while the epidermis is detached from the protein piece by a space. Two of those lentoids are here shown. One gets the impression that at the time of operation several small restricted areas of intimate contact were established between the inductor and reacting system where later the lentoid differentiation was initiated.

e) *Pigment-vesicle*. This type of induction has no corresponding normal structure. It is a small vesicle of lower epithelium, whose cytoplasm gives impression of transparency through poverty of the pigment granules. In the central cavity it contains a patch of melanin which seems to exist extracellularly. It occurs either perfectly isolated in the epidermis or attached to the brain-vesicle. In the latter condition it can be assumed to be a degraded optic rudiment, with which it has undeniable histological resemblance, or an atypic form of the epiphysis (fig. 20, pl. 4).

f) *Mesenchyme and Melanophores*. These differentiations occur in association. Often they accompany the neural rudiment. In some cases however they are the sole induction of the explant (cf. fig. 13 and 14, pl. 3). When a dense population of the mesenchyme-cells are found it is usually accompanied by a thickening of the epidermis where the cells are markedly condensed to be discharged as the wandering cells.

g) *Frontal Gland-type*. This type of differentiation is very often found among the epidermis in the vicinity of the neural induction. As they do not occur in the control series they can be designated also as the induction.

h) *Balancer-type*. Imperfect balancer-like structures are encountered in a few cases.

i) Fragmental neural tissues without morphological characterization are found besides other neural inductions.

Table 1. Number and Percentage of Inductions in the Isolates of Series I.

Number of cases examined	Number of explants with any induction	General induction frequency	Number and percentage of explants including the induction-types:							
			Eye	Brain	Nose	Lens	Otic lobe	Pigment-vesicle	Mesenchyme	Melanophore
138	133	96%	61	115	39	16	0	10	19	21
			44%	83%	28%	11%	—	7%	13%	15%
			(76)	(174)	(85)	(24)	—	(25)	—	—

In parenthesis: actual number of induced anlagen.

In table 1 microscopic study of 138 in section studied explants of this series is summarized. Here it might be convenient to explain the percentages used in the following description;

- (1) General Induction Frequency = $\frac{\text{number of explants containing any induction of the series}}{\text{number of explants of the series}} \times 100$
- (2) Specific Induction Frequency = $\frac{\text{number of expl. containing an induc.-type of the ser.}}{\text{number of explants of the ser.}} \times 100$
- (3) Relative Induction Frequency = $\frac{\text{number of expl. containing an induc.-type of the ser.}}{\text{number of expl. containing any induc. of the ser.}} \times 100$

As in many explants more than two rudiments of one type are induced, the percentage of the actual number of rudiments to all explants is much higher than the specific induction frequency here defined. For instance for the case of brain-type we get then 126% instead of 83% as in the table 1.

Summarizing the observations made in the present series of experiments it may be stated that the implant causes the isolated ectoderm to differentiate a number of ectodermal tissues whose regionality can be characterized as cephalic, or more specifically speaking as archencephalic (LEHMANN 1940). It must be admitted however, that besides those clearly cephalic structures a number of differentiations are obtained which cannot be regionally characterized. Two groups of them may be distinguished. In one of these groups, the regionality cannot be determined because they occur in the normal ontogenesis on almost all levels of the cephalo-caudal axis. Here belong the mesenchyme and melanophores. The other group contains structures which have no corresponding form in the normal ontogenesis. To this belong "the fragmental neural tissues." In both groups however no case is established which speaks positively for the occurrence of inductions belonging to a more posterior level.

Table 2. Number and Percentage of Inductions in the Isolates of Series II.

Number of cases examined	Number of explants with any induction	General induction frequency	Number and percentage of explants including the induction-types:							
			Eye	Brain	Nose	Lens	Otic lobe	Pigment-vesicle	Mesenchyme	Melanophore
109	85	77%	10	32	36	14	3	19	50	36
			9%	29%	33%	12%	2%	17%	45%	33%
			(10)	(44)	(78)	(24)	(3)	(19)	—	—

In parenthesis: actual number of induced anlagen.

III. EXPERIMENTAL SERIES II.

In this series Pr. II (p. 2) with iron powder was tested for its inductive effect under the condition comparable to the experimental series I.

Microscopic study. As shown in table 2 which summarizes the observation of 109 valid explants a decisive reduction of percentage is found compared to the first experimental series, in so far as the eye and brain are concerned, while

the percentage of mesenchyme and melanophores is clearly augmented. Very small otic lobe-like vesicles are induced in three cases. They are undifferentiated, and show no segregation of the sensory epithelium and endolymphatic duct.

IV. EXPERIMENTAL SERIES III.

In this series the same protein coagulum (Pr. II) was used as in the series II. Here however no iron powder was added to the coagulum.

The reduction of induction was reflected in the external observation during the culture: No clear neural plate could be observed.

Table 3. Number and Percentage of Inductions in the Isolates of Series III.

Number of cases examined	Number of explants with any induction	General induction frequency	Number and percentage of explants including the induction-types:							
			Eye	Brain	Nose	Lens	Otic lobe	Pigment-vesicle	Mesenchyme	Melanophore
33	20	60%	1	2	3	3	0	2	16	12
			3%	6%	9%	9%	—	6%	48%	36%
			(1)	(2)	(4)	(3)	—	(2)	—	—

In parenthesis: actual number of induced anlagen.

Table 3 which summarizes the microscopic examination of 33 explants shows clearly that the reduction of eye- and brain-frequency is here more pronounced than in the series II, while the mesenchyme and melanophores are the most frequently induced tissues.

V. EXPERIMENTAL SERIES IV.

In this series Pr. III (p. 2) was tested for its inductive effect, after adding a small quantity of iron powder on its surface. No neural plate was observed on living explants and the external appearance of them differed not much from that of the control series. The result of microscopic examination is summarized in table 4. Strong reduction of the induction frequency and induction quality compared to the former series is not to be doubted. Here obtained

Table 4. Number and Percentage of Inductions in the Isolates of Series IV.

Number of cases examined	Number of explants with any induction	General induction frequency	Number and percentage of explants including the induction-types:							
			Eye	Brain	Nose	Lens	Otic lobe	Pigment-vesicle	Mesenchyme	Melanophore
41	12	29%	0	0	2	0	0	1	11	8
			—	—	4%	—	—	2%	26%	19%
			—	—	(2)	—	—	(1)	—	—

In parenthesis: actual number of induced anlagen.

nose-type inductions are atypical. However the percentage of mesenchyme and melanophores are not much reduced compared with that of series II and III.

DISCUSSION OF RESULTS

Comparing the results obtained in experimental series I, II and IV it is clear that the protein extract suffers a gradual reduction of its induction power through exposure to 80° C. air. Thus the general induction frequency shows the reduction series: 96, 77, 29. Further comparing all results of series II and III it is very probable that the presence of iron powder on the protein surface has the augmenting effect on the general frequency. (On statistical test the difference of the general induction frequency between series II and III was found to be significant, $\alpha = 0.039$). If we take the specific induction frequency for the brain-type as the standard of comparison the difference is more accentuated. This comes from the fact that this type is the most frequently induced in series I and at the same time one of the most sensitive types to the reduction of induction power.

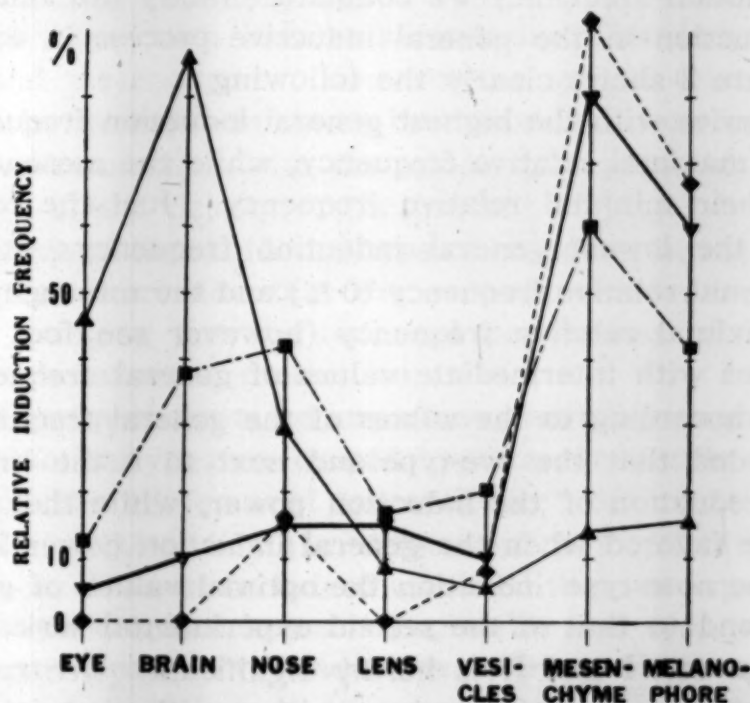


Fig. 2. Comparison of relative frequency of induction-types in four experimental series.

- ▲ Exp. ser. I, 138 cases, general induction frequency = 96%
- Exp. ser. II, 109 cases, general induction frequency = 77%
- ▼ Exp. ser. III, 33 cases, general induction frequency = 60%
- ◆ Exp. ser. IV, 41 cases, general induction frequency = 29%

Note the relatively high frequency of eye- and brain-type and relatively low frequency of mesenchyme- and melanophore-type in exp. ser. I., which has the highest general induction frequency (96%), and inversely no occurrence of eye- and brain-type and relatively high frequency of mesenchyme- and melanophore-type in exp. ser. IV, where the general induction frequency is lowest (29%). The intermediate series (II, and III) show intermediate conditions according to their general induction frequency (77% and 60%).

In this connection it may be recalled that the protein coagulum used in the series I is sticky and adheres intimately to the interior surface of the ectoderm, while this stickiness is reduced conspicuously in the course of drying of the coagulum with hot air. An intimate contact between the implant and reacting cells might be a necessary if not sufficient condition for the induction of the middorsal organs. A comparable relationship is realized in the normal induction of the ectodermal organs: the middorsal organs are induced in the region of the intensive adhesion of the ectoderm and endomesoderm, while the epidermis is developed in the region of the least adhesion.

The next and most important task is to make clear the change of specific induction which accompanies the gradual reduction of the general induction frequency. For this purpose a comparison of tables I to IV would be very helpful. A more rational way of comparison is tried in fig. 2, where the percentage of specific induction-types is based not on the specific induction frequency as in the tables but on the relative induction frequency (p. 7), which signifies the percentage of explants with the type of induction in question to the explants with any induction of the experimental series. Through comparing the relative induction frequency we compare directly the relative significance of a specific induction in the general inductive process in each experimental series.¹ The figure 2 shows clearly the following:

(1) In the series with the highest general induction frequency the eye and brain have their maximal relative frequency, while the mesenchyme and melanophores have their minimal relative frequency. Just the contrary holds for the series with the lowest general induction frequency: the eye and brain having their minimal relative frequency (0 %) and the mesenchyme and melanophores their maximal relative frequency (however see foot note¹). In the intermediate series with intermediate values of general frequency the relative frequency varies according to the values of the general frequency. From this it may be concluded that the eye-type and next to it the brain-type is most sensitive to the reduction of the induction power, while the mesenchyme and melanophores are favored when the general induction power is reduced.

(2) As to the nose-type induction the optimal values of general frequency seem to correspond to that of the second experimental series. But the difference between exp. ser. I and II is hardly significant. We can conclude however safely that the nose-type is not so sensitive to the reduction of the general induction frequency as the brain- and eye-type. This holds also for the lens-type induction.

¹ As small number of samples are here used for the calculation of the relative induction frequency of the experimental series III and IV it is advisable to test the statistical significance of the values obtained. Calculation of χ^2 adopting the correction of YATES shows that the difference of percentage of the mesenchyme between series IV and III is not significant ($\alpha > 0.05$), while the difference of the same between series IV and II is significant ($\alpha = 0.031$). Insignificant is also the difference of the eye-type frequency between series II and III. The following discussion is made on the data tested statistically in this way.

Arranging the induction-types according to the value of the general induction frequency, at which they occur most frequently, we get the following table.

Induction-Types		Optimal Value of General Induction Frequency(%)
eye	}	96
brain		
nose		{ 96
		{ 77
lens		{ 96
		{ 60
mesenchyme	}	{ 60
melanophores		
		{ 29

If we assume that the general induction frequency is proportional to the quantity of the inducing factor then our results would mean that corresponding to the quantitative change of the inducing factor qualitative change of inductive effect occurs. However in this connection we have to examine other theoretical possibilities.

One might perhaps ask whether it is not possible to explain the above obtained data through assuming that a specific brain-factor induces primarily the brain, which in its turn induces secondarily other induction-types such as nose, lentoid and mesenchyme. However the spatial relationship of different induction-types in the explants shows that nose- and lens-type inductions occur not only in close connection with the middorsal organs but also isolated from the latter in the direct vicinity of the implant. Many of them occur even in the perfect absence of the middorsal type of induction in the explant. All those facts point to the conclusion that the secondary induction has only limited significance in bringing out the observed populations of induction-types and their change in the experimental series.

The second and perhaps more important possibility might be the following: the different induction-types are caused by different specific agents contained in the implant, and the "differential susceptibility" of induction-types above observed expresses nothing but the differential susceptibility of these specific agents themselves. It must be indeed admitted that our implant contains different chemical substances, and hence it is possible and even probable, that different substances participate in the inductive activity. However even if the latter situation is the case it is not at all warranted to conclude that they act as specific inducing agents, because it is also possible that different agents bring out one and the same morphogenetic effect, and their qualitative difference does not determine the difference in the quality of induction. It is not possible to decide the problem at issue from the data obtained in the present investigation alone. However the following consideration of other experimental results leads us to a clearer situation: HOLTFRETER (1944, 1945, 1947) showed that the isolated presumptive ectoderm of *Amblystoma punctatum* differentiates into structures resembling to brain, eye, nasal placodes and derivatives of the neural crest. He demonstrated further that the isolated ectoderm of *Triturus torosus* gives rise to the same type of structures if it is exposed to different cytolytic

agents for a short time and then cultured in the balanced salt solution. The same results were obtained by the present author using the ectoderm of *Triturus pyrrhogaster* as the reacting system and ammonia as cytolytic agent (YAMADA 1950). Now quite comparable morphological structures may be induced if the isolated ectoderm of early gastrula of the same species is put in contact with different substances: glutathione (1/50 M, neutralized, in agar, fig. 19, pl. 4); "Fesol" (a colloidal iron salt, fig. 24, pl. 4); iron powder (weak induction in strong dosis, fig. 23, pl. 4); some fractions of the adult tissue extract; dead yolk mass of the embryo (all unpublished data). Induction experiment of HOLTFRETER (1933) with the dead germ regions belongs probably to this category.

It is rather astonishing to find out that the mode of differentiation obtained with those divergent procedures in isolated ectoderm coincides so well one another and also with that of the present experiments. One gets the impression that the general pattern of reaction is laid down in some very labile way in the presumptive ectoderm and through application of one of those agents this pattern is realized, although the details of the differentiated structure may be dependend solely on the conditions prevailing at the time of induction.¹

All those situations make highly improbable that in the present experiments different induction-types have different specific inducing chemical agents of their own, and the observed "differential susceptibility" is caused through differential elimination of this specific agents. At the same time the explanation is made more plausible that the "differential susceptibility" of different induction-type is caused through the diminution of the general inducing capacity of the inductor. A decisive conclusion must be however reserved till comparable experiments will be made with graded doses of a cytolytic agent.

THEORETICAL CONSIDERATION

Our results above reported and their considerations present us some difficult questions. Why in our experiments only cephalic and predominantly archencephalic inductions are obtained? Is there no contradiction between our general conclusion reached at the end of the last chapter and the specific regional inductions obtained with different adult tissues? and etc. Before we discuss those questions it is necessary to define our theoretical attitude to the general problem of the organization.

Studying the segregation of mesodermal organs of the trunk region the author came to the general conclusion that the results may be explained best if we follow DÁLCQ and PASTEELS (1937, 1938) in adopting the concept of the morphogenetic potential and in expressing the behavior of the presumptive regions in terms of the dorso-ventral sequence (YAMADA 1939, 1940). They

¹ If the prechordal part of the archenteric roof ("head organizer") is cut out and fused to the isolated ectoderm, a quite similar inductions are obtained. The morphology of the induced archencephalic structures deviates considerably from the normal one (fig. 18, pl. 3), and often coincides well with the present obtained. This in its turn confirms the archencephalic nature of our inductions.

analyzed the developmental process of the vertebrate in dorso-ventral and cephalo-caudal hierarchies which they assumed to be regulated quantitatively. The "morphogenetic potential" governs, on the scheme of the Belgian writers, all physiological and morphogenetic activities, realizing their effect through the threshold values. The behavior of the mesodermal regions studied by transplantation and explantation found an unitary explanation, only when the concept of the morphogenetic potential operative in the dorso-ventral sequence was accepted. However the present author (1940) did not adopt the special definition of the morphogenetic potential and the qualifications of its effect put forward by DALCQ and PASTEELS. They contended that a yolk factor denoted V and a cortical factor denoted C react to give rise to morphogenetically active substance. This products symbolized by CV are formed on the egg surface in regionally different quantity. The morphogenetic potential was defined as this value and its influence was expected to vary according to (a) its absolute amount and (b) the ratio C/V . This special hypothesis about C and V factors is itself suggestive and has the merit to put many separate facts in an unitary scheme. However the present author found it not advisable to define the morphogenetic potential on ground of a special hypothesis. Moreover recent induction experiments with abnormal inductors were found difficult to be brought into direct connection with C - V -hypothesis. On the other hand a series of experiments made in this country (OKADA and TAKAYA 1942, OKADA and HAMA 1943, 1944, KAWAKAMI 1943, 1944, HAMA 1947, 1949) pointed to the importance of the morphogenetic movement itself for the regionality of induction. Considering all those points the author projected a theoretical scheme extending the DALCQ-PASTEEL's concept of the potential-threshold without touching the C - V -assumptions (YAMADA 1947).

Here the morphogenetic potential was defined in the following manner: (I) The conditions in the germ region which decide its subsequent development in all of its aspects are assumed to vary at a given stage, in a regular way along the developmental axis.¹ (II) The variation in the morphogenetic conditions along a developmental axis can be expressed quantitatively. The value here obtained is called the morphogenetic potential of the axis concerned. (III) If there are n developmental axes in the developing germ there are correspondingly n series of variation and hence n morphogenetic potentials, which may be qualitatively different one another (cf. YAMADA 1940, 1949).

Now to apply this concept to the early amphibian development the following scheme was proposed (cf. YAMADA 1947, 1949, 1950, HAMA 1949, 1950). (1) The developmental activity of a given germ region depends, above all, upon two sorts of "potentials," which are designated respectively the dorso-ventral and cephalo-caudal, and can vary relatively independently of each other. (2) At a given developmental stage, the dorso-ventral and cephalo-caudal potentials show a definite value along the respective axis; or, otherwise expressed, every germ region has a definite value of both potentials according to its topographical position relative to both axes. (3) In the course of the development the

¹ As the developmental axis is here denoted the axis which has causal significance in bringing out the future organization.

values of both potentials show a continual change, which is characteristic for the germ region and for the stage. The developmental activities of any germ region are the combined effects of the time-curves of both potentials. (4) The change in the potential is effected partly through the factors inherent in the germ region and partly through factors external to it. The latter factors are called the mediators. There are two of them the dorso-ventral and cephalo-caudal mediators affecting respectively the dorso-ventral and cephalo-caudal potentials.

This scheme gets heuristic significance through adopting the following special assumptions: (a) The dorso-ventral potential (P_{dv}) is assumed to be connected primarily with the intensity of some of the biochemical activities of the developing system, while the cephalo-caudal potential (P_{cc}) is connected primarily with the morphogenetic movements of the developing system. (b) Most of the phenomena, called embryonic induction, involve a shift of P_{dv} toward the dorsal end, and may be in this sense called dorsalization. The dorsalization is mediated through chemical factors. Experimentally many chemical substances or procedures leading to the cytolysis can play the role of a dorso-ventral mediator (M_{dv}). (c) As the cephalo-caudal mediator (M_{cc}) acts in the normal ontogenesis not a diffusible chemical substance but dynamic condition: stretching and shifting of the inducing and reacting systems. In experiments a structure of the adult tissue can substitute this dynamic factor of stretching-converging organizer. (d) The morphogenetic "indifferent" state, such as is found in the presumptive ectoderm of the early gastrula of many amphibians, is characterized by the ventral (low) value of P_{dv} and the cephalic (low) value of P_{cc} . This means that through the action of any M_{dv} in sufficient quantity, such a germ region can be induced to form archencephalic middorsal organs (eye, brain), while without such action of mediators this germ region will differentiate only epidermis (in anurans also the sucker, a cephalic and ventral differentiation). In the case of insufficient dorsalization however archencephalic organs of intermediate dorso-ventral levels such as nose, lens, mesenchyme and melanophores will be obtained. (e) To get the caudal axial organs (spinal cord, tail cord, notochord, myotome) out of the same material (the presumptive ectoderm) M_{cc} must be applied as well as M_{dv} , to shift P_{cc} in caudal direction. (The ventral value of P_{dv} and cephalic value of P_{cc} being called "low," the effect of M_{dv} and M_{cc} can be designated in this case as a rise in the respective potential value.) On the time-curve of P_{cc} depends the regionality (cephalo-caudality) of the attained differentiation: in the case of maximal caudalization notochord, myotome and tail, in the case of weaker caudalization the deuterencephalic structures will be obtained and etc. It must be emphasized however that the M_{cc} alone does not have its effect, unless M_{dv} is applied at the same time, while M_{dv} alone does have the effect of dorsalization leading to archencephalic dorsal differentiations as stated.

The above assumption concerning P_{cc} and M_{cc} are derived from the following considerations (YAMADA 1947): (1) In the normal development the cephalo-caudality is characterized by the mode of the morphogenetic movement. In the most cephalic region the principal direction of movements runs parallel

to the proximo-distal axis, while in the more caudal regions this type of movement gives way to the stretching-convergence which is directed tangential to the germ surface, the more caudal the germ region the more intensive the stretching-convergence. The regional intensity of the stretching-convergence may be expressed in a spatio-temporal gradient, which comprises the marginal zone as well as the ectodermal region. We know from experiments that this type of morphogenetic movement is inherent in the marginal zone (VOGT 1922), but not so in the ectoderm, while it can be impressed on the latter from the marginal zone. The well known staining experiments of GOERTTLER (1925) visualize this stretching-convergence within the presumptive neural plate in a fascinating manner. The presumptive archencephalic region does not show any sign of stretching-convergence while the presumptive deuterocephalic, spinal and the caudal myotomal regions show stretching-convergence in gradually growing intensity in the above sequence. Further we know from the experiments of VOGT and SPEMANN that the presumptive notochord as the middorsal region of the marginal zone is the site of the most intensive stretching-convergence (cf. also SCHECHTMAN 1942). (II) The inductive influence of the archenteric roof on the ectoderm occurs also within this dynamic pattern of cephalo-caudality. This gives rise to an important gradient of shifting between the reacting and inducing layers: *The archencephalic region is the only region where the inductor and reactor remain in stationary condition, i.e. not shifting relatively in the cephalo-caudal direction, while in more caudal regions the shifting between the inducing and reacting systems accompanied by the stretching-convergence is the stronger the more caudal the level.* (III) This might suggest that the ectoderm is polarized, and the mode of morphogenetic polarization is subsequently expressed in the mode of its movement and differentiation. Inherently the ectoderm is polarized proximo-distally and this labile polarization is fixed in the archencephalic region under the stationary inductive influence of the prechordal part of the archenteron, to give rise to proximo-distally characterized morphogenesis, the organs of the archencephalic region. However the proximo-distal polarization gives way to the tangential one in different degrees on the more caudal levels. This occurs through the orienting effect of the shifting and stretching archenteron which underlay the ectoderm concerned. This conversion of the morphogenetic polarity together with the chemical stimulus exerted from the archenteric roof leads to the movement and morphogenesis of more or less caudal nature: deuterocephalic, spinal and caudal formation. The dorsal and dorso-lateral marginal zones are the region of the inherent tangential polarization from where it is propagated to the ectoderm, giving rise to the above stated pattern of movements and later to regional organ formations. Then the organizer acts through its inherent spatio-temporal gradient of dynamic factor as well as of chemical factor on the adjoining germ region. A seemingly serious objection to this idea might be given by the caudal induction out of the presumptive ectoderm by some of the adult tissues (HOLTFRETER 1934, TOIVONEN 1938, 1940, CHUANG 1938, 1939, 1940, FUJII 1944, HAMA 1944, OKADA 1949 and others). A fact which has been interpreted till now as showing the presence of some specific inducing chemical factors, However if our idea is

applicable also to this case, it must be expected, that some adult tissues possess besides its inducing chemical substance (M_{dv}), a factor which is capable to change the morphogenetic polarity of the reacting system from the proximo-distal to the tangential one. Probably this factor (M_{cc}) is a structure of the tissue (YAMADA 1948, 1949). This assumption has some experimental grounds (HAYASHI,¹ unpubl., YAMADA 1948, and unpubl.): If one succeeds to isolate the inducing principle from the adult tissue which itself is a caudal inductor ($M_{dv} + M_{cc}$), *extract* is obtained which induces the archencephalic structures ($M_{dv} + 0$), and the caudal induction is obtained only when some structured elements of the tissue is implanted ($M_{dv} + M_{cc}$). Treatment with hot water demolishes an anisotropic structure of the liver tissue of *Triturus*, which is a strong caudal inductor ($M_{dv} + M_{cc}$), and with it the caudal inducing factor, converting it to the archencephalic inductor ($M_{dv} + 0$), as shown earlier by CHUANG (1939, 1940).² But the treatment of the tissue with hot lipoid-solvent does not demolish its power of caudal induction ($M_{dv} + M_{cc}$).

All those seem to suggest that there are a chemical M_{dv} and a structural M_{cc} in such adult tissues, and their caudal induction is the *combined* effect of both mediators. Now if their structure is inactivated through hydration or removed in the extracting procedure, and then the morphogenetic effect of the substance is tested the archencephalic induction will be obtained, because M_{cc} of the substance is inactivated and M_{dv} alone remains intact. More pertinent data and detailed discussion will be put forward in the following paper in which the caudal inducing factor of the adult tissue is analyzed.³

Coming back to the present results our implant induces only cephalic and predominantly archencephalic structures through shifting the P_{dv} of the ectoderm to a higher level without changing the value of P_{cc} , which retains its original minimal value. Here we have typical case of dorsalization, comparable to the precytolytic stimulation of the isolated ectoderm (HOLTFRETER 1944, 1945, 1947; YAMADA 1950). The specific difference in the obtained structures which all belong to the same level of the cephalo-caudal axis, is explained on our hypothesis through difference in the P_{dv} -curve and its spatial pattern which occurs in the germ regions concerned. The results summarized in fig. 2 are just what to be expected from the theory. The general inducing frequency signifies the value of M_{dv} , the higher the M_{dv} the higher the probability of the induction of the middorsal organs (eye, brain), the lower the M_{dv} the higher the probability of induction of more lateral tissues such as mesenchyme.

¹ The present author is indebted to Mr. YUJIRO HAYASHI who permitted him to cite some results of his unpublished experiments, which will be further extended in the future. However the responsibility for the explanation here adopted is with the present author.

² Results of CHUANG (1939, 1940) can be interpreted excellently by the hypothesis as will be made clear in the following publication.

³ In the recent publications of TOIVONEN (1949, 1950), which were received after the completion of the present paper, new data are reported concerning the chemical nature of the inducing factors of adult tissues. His results are also just what to be expected from our hypothesis. Detailed discussions are reserved for the next paper.

Our observation above reported, that the eye-type occurs more frequently in the region of an intimate contact with the implant (p. 4 and 10) speaks also for the assumption that a higher level of the archencephalic differentiation occurs in the region of the maximal stationary contact between the inducing and reacting systems.

In spite of the fact that the protein-implant here used induces structures of the archencephalic region, I do not find it appropriate to call it the specific chemical factor of the archencephalic structures, because its morphogenetic effect is not preformed in the chemical nature of the substance. Generally there is no specific inducing chemical factors on our scheme.

The general conclusions here reached suggest that the basic mechanism of the regional specialization within the ectoderm conforms well with that of the marginal zone, where the fundamental idea of DALCQ and PASTEELS (1937, 1938) found good support by the results of transplantation (YAMADA 1937, 1939), combined explantation (YAMADA 1939, 1940, FERNALD 1943) and ammonia-treatment (YAMADA 1950). The superficial differences of the behavior of the ectoderm and marginal zone in the classical surgical experiments find their explanation by assuming that in the ectoderm the reactivity of P_{dv} to the mediator is stronger but vanishes earlier than in the marginal zone and that only in the latter the gradient of P_{dv} and P_{cc} is established and raised intrinsically, while in the ectoderm both P_s are wholly dependent on the mediators from the marginal zone. In the trunk region this contrast between the ectoderm and marginal zone seems to be diminished, where TADA (1944a, b) demonstrates that the isolated piece of the closing neural tube of *Triturus* embryo (excluding the neural folds)-differentiates abundant melanophores, and that the quantity of the latter is decisively reduced if the neural tube is cultured with the underlying notochord. The results are comparable with the earlier experiments on the presumptive organs of the trunk mesoderm (YAMADA 1939, 1940) on one side, and with the present results on the other. The notochord plays in TADA's experiment the role of M_{dv} , raising the P_{dv} of the neural tube which without notochord does not go up high enough to differentiate wholly into the neural tissue. NAKAMURA's transplantation experiments (1947) show further that a closely comparable relation exists also in the tail region.

SUMMARY

1) The presumptive ectoderm of the early gastrula of *Triturus pyrrhogaster* was isolated and put in contact with coagulated piece of protein extract from ox muscle with iron powder and cultured in HOLTFRETER solution.

2) When the protein coagulum was implanted in its "original" condition (Pr. I, see p. 2) with iron powder, induction was observed in 96% of explants, comprising following types of differentiations: eye, brain, nose, lentoid, pigment-vesicle, mesenchyme and melanophores.

3) When the protein was dried in 80° C. air in different degree the general induction frequency fell gradually from 96% to 29%. Absence of iron powder caused also a fall of the general induction frequency in the case of the "dried" protein,

同
走
分

150
1
378

4) Parallel to the fall of the general induction frequency (96 %, 77 %, 60 %, 29 %) a sudden fall in the relative frequency of the eye-type induction (45 %, 11 %, 5 %, 0 %) and of the brain-type induction (86 %, 37 %, 10 %, 0 %) was observed, while on the other hand a sudden rise of the relative frequency was ascertained for the mesenchyme (14 %, 58 %, 80 %, 91 %) and for the melanophores (15 %, 42 %, 60 %, 66 %). The nose-type and lentoid showed an intermediate behavior between those extreme groups (*cf.* fig. 2).

5) The results were discussed from the stand point of the double-potential theory.

LITERATURE CITED

- BORDZILOWSKAJA, N., 1938. Selbstdifferenzierungsfähigkeit des Neurula-Ektoderms. *Acad. Sci. Ukr. SSR 12. Rep. Inst. Zool. Biol.* 63-71. — CHUANG, H., 1938. Spezifische Induktionsleistungen von Leber und Niere im Explantatversuch. *Biol. Zentralbl.* 58, 472-480. — CHUANG, H., 1939. Induktionsleistungen von frischen und gekochten Organteilen (Niere, Leber) nach ihrer Verpflanzung in Explantate und verschiedene Wirtsregionen von Tritonkeimen. *Roux' Arch.* 139, 556-638. — CHUANG, H., 1940. Weitere Versuche über die Veränderung der Induktionsleistungen von gekochten Organteilen. *ibid.* 140, 25-38. — DALCQ, A., and J., PASTEELS, 1937. Une conception nouvelle des bases physiologiques de la morphogénèse. *Arch. Biol.* 48, 669. — DALCQ, A., and J., PASTEELS, 1938. Potentiel morphogénétique, régulation et "axial gradients" de Child. *Bull. Acad. Roy. Méd. Bel. 6. ser.* 3, 261-308. — FERNALD, R., 1943. The origin and development of the blood island of *Hyla regilla*. *Univ. Cal. Publ. Zool.* 51, 129-143. — FUJII, T., 1944. Experimental studies on neural and mesodermal inductions in the early development of *Triturus*. *J. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. sec. IV.* 6, 451-474. — GOERTTLER, K., 1925. Die Formbildung der Medullaranalge bei Urodelen. Im Rahmen der Verschiebungsvorgänge von Keimbezirken während der Gastrulation und als entwicklungsphysiologisches Problem. *Arch. Entw. mech.* 106, 503-541. — HAMA, T., 1944. On the inductive specificity of fresh and boiled tissues of vertebrate kidney and liver. *Annot. Zool. Japan.* 22, 165-172. — HAMA, T., 1947. Interchange between head organizer and trunk organizer (in Japan.). *Zool. Mag. (Tokyo)* 57, 137-140. — HAMA, T., 1950. On the morphogenesis of the vertebrates. II (in Japan.). *Kagaku* 20, 100-107. — HOLTFRETER, J., 1933a: Nachweis der Induktionsfähigkeit abgetöter Keimteile. Isolations- und Transplantationsversuche. *Roux' Arch.* 128, 585-633. — HOLTFRETER, J., 1933b. Die totale Exogastrulation, eine Selbstablösung des Ektoderms vom Entomesoderm. *Roux' Arch.* 129, 670-793. — HOLTFRETER, J., 1934. Über die Verbreitung induzierender Substanzen und ihre Leistungen im Triton-Keim. *Roux' Arch.* 132, 308-383. — HOLTFRETER, J., 1938. Differenzierungspotenzen isolierter Teile der Urodelengastrula. *Roux' Arch.* 138, 522-656. — HOLTFRETER, J., 1944. Neural differentiation of ectoderm through exposure to saline solution. *J. exp. Zool.* 93, 251-340. — HOLTFRETER, J., 1945. Neuralization and epidermization of gastrula ectoderm. *ibid.* 98, 161-209. — HOLTFRETER, J., 1947. Neural induction in explants which have passed through a sublethal cytotoxicity. *ibid.* 106, 197-222. — HOLTFRETER, J., 1948. Concepts on the mechanism of embryonic induction and its relation to parthenogenesis and malignancy. *Sympos. Soc. exp. Biol. Growth.* 11, 17-49. — KAWAKAMI, I., 1948. The development of the ectodermal sense organs in amphibian (in Japan.). *Journ. exper. Morph.* 4, 17-44. — LEHMANN, F. E., 1944. Stoff, Struktur und Form in der Embryonalentwicklung der Tiere. *Rev. Suis. Zool.* 51, 333-350. — NAKAMURA, O., 1947. Determination and differentiation in the developing tail of the newt (in Japan.). *Journ. exper. Morph.* 3, 7-35. — OKADA, Y. K., 1949. On the induction of the notochord by frog's skin. *Zool. Magaz. (Tokyo)*, 58, 158. — OKADA, Y. K., and T. HAMA, 1943. Examination of

regional differences in the inductive capacity of the organizer by means of transplantation into ectodermal vesicles. *ibid.* 19, 48-53. — OKADA, Y. K., and T. HAMA, 1944. On the different effects of the amphibian organizer following culture, transplantation and heat treatment. *ibid.* 20, 36-40. — OKADA, Y. K., and H. TAKAYA, 1942a. Experimental investigation of regional differences in the inductive capacity of the organizer. *Proc. Imp. Aca. Tokyo* 18, 505-513. — OKADA, Y. K., and H. TAKAYA, 1942b. Further studies upon the regional differentiation of the inductive capacity of the organizer. *ibid.* 18, 514-519. — PURR, A., 1935. Studies on the reversible inactivation of papain and cathepsin. *Bioch. J.* 29, 5-12. — SCHECHTMAN, A. M., 1947. The mechanism of amphibian gastrulation. I. *Univ. Calif. Public. Zool.* 51, 1-32. — TADA, H., 1944a. The localization of pigment cell-producing areas in the newt neurula. *Zool. Mag. (Tokyo)* 56, 25-28. — TADA, H., 1944b. Vanishment of the pigment cell-producing capacity of the newt neural plate. *ibid.* 56, 29-31. — TOIVONEN, S., 1938. Spezifische Induktionsleistungen von abnormen Induktoren im Implantatversuch. *Ann. Zool. Soc. Zool. Bot. Fenn. Vanamo* 5, 1-8. — TOIVONEN, S., 1940. Über die Leistungsspezifität der abnormen Induktoren im Implantatversuche bei Triton. *Ann. Acad. Sc. Fenn. Ser. A* 55, 1-150. — TOIVONEN, S., 1949. Die Induktionswirkung von leistungsspezifischen heterogenen Induktoren nach Behandlung mit verschiedenen Eingriffen (Temperatur, Lösungsmitteln u. dgl.) im Implantationsversuch bei Triton. *Arch. Soc. Zool. "Vanamo"* 4, 28-33. — TOIVONEN, S., 1950. Stoffliche Induktoren. *Rev. suis. Zool.* 57, 41-56. — VOGT, W., 1922. Die Einrollung und Streckung der Urmundlippen bei Triton nach Versuchen mit einer neuen Methode embryonaler Transplantation. *Verh. deutsch. Zool. Gesell.* 27, 49-51. — WAGNER, G., 1949. Die Bedeutung der Neuralleiste für die Kopfgestaltung der Amphibienlarven. Untersuchungen an Chimären von *Triton* und *Bombinator*. *Rev. Suis. Zool.* 56, 519-616. — YAMADA, T., 1937. Der Determinationszustand des Rumpfmesoderms im Molchkeim nach der Gastrulation. *Roux' Arch.* 137, 151-270. — YAMADA, T., 1939a. Über die bedeutungsfremde Selbstdifferenzierung der präsumptiven Rückenmuskulatur des Molchkeims bei Isolation. *Fol. Anat. Japon.* 18, 565-568. — YAMADA, T., 1939b. On the differentiation in the early development of amphibia (in Japan.). *Kagaku* 9, 526-530. — YAMADA, T., 1940. Beeinflussung der Differenzierungsleistung des isolierten Mesoderms von Molchkeimen durch zugefügtes Chorda- und Neuralmaterial. *Fol. Anat. Japon.* 19, 131-197. — YAMADA, T., 1942. Über die Induktionsleistung der SH-gruppe. Versuche an Explantaten von Amphibienkeimen. *Proc. Imp. Acad.* 18, 86-88. — YAMADA, T., 1947. An extension of the potential theory of the morphogenesis (in Japan.). *Zool. Mag. (Tokyo)*, 57, 124-126. — YAMADA, T., 1949. Double-potential theory of the early ontogenesis (in Japan.). *"New Biology."* 85-116. — YAMADA, T., 1950. Dorsalization of the ventral marginal zone of the *Triturus* gastrula. I. *Biol. Bull.* 98, 98-121.

EXPLANTATION OF FIGURES

Plate 1.

- Fig. 1. Control series. The atypic epidermis formed by the isolated ectoderm. ($\times 80$)
- Fig. 2. Exp. ser. I. Above, the induced "brain" with an epiphysis-like structure. Below, a part of the implant. Note the typical epidermis developed around the brain. ($\times 135$.)
- Fig. 3. Exp. ser. I. Left, a nose-like rudiment with its opening. Right, another nose-like rudiment. Above, a part of the "brain." Below, a part of the implant. ($\times 135$.)
- Fig. 4. Exp. ser. I. A brain-like structure with a large cavity is induced. Below, a part of the wall is differentiated into a small retina-like tissue. Note the concentration of the pigment granules on the internal surface of the latter, and the intimate contact between the retina-like tissue and the implant. ($\times 135$.)
- Fig. 5. Exp. ser. I. Two lentoids without accompanying structures were induced from implanted protein membrane, which is shown in the middle. Note the intimate contact

of protein and lentoids. ($\times 135$.)

- Fig. 6. Exp. ser. I. Above, a small neural vesicle; just below it an ectodermal cord continuous to the epidermis. Below left, an imperfect lentoid. Middle, the implant. ($\times 135$.)

Plate 2.

- Fig. 7. Exp. ser. I. A small fragment of the retina-like tissue attached to the implant. Note the pigment-concentration and the elongated nuclei. ($\times 135$.)
- Fig. 8. Exp. ser. I. An eye-like rudiment surrounded by a layer of pigment and neural tissue. Left below, the implant. ($\times 135$.)
- Fig. 9. Exp. ser. I. A brain-like rudiment accompanied by an "optic cup." Right below, the implant. ($\times 135$.)
- Fig. 10. Exp. ser. I. A "brain" accompanied by a nose-like structure. Below middle, an ectodermal cord. Scattered mesenchymous cells in the cavity. ($\times 135$.)
- Fig. 11. Exp. ser. I. An eye-like rudiment with the "tapetum." ($\times 135$.)
- Fig. 12. Another section through the same rudiment. Note the arrangement of the elongated nuclei. Below, the implant. ($\times 135$.)

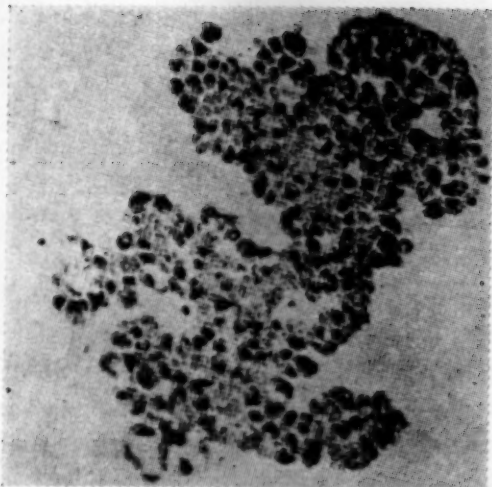
Plate 3.

- Fig. 13. Exp. ser. IV. A group of melanophores besides mesenchyme are induced within an epidermal vesicle. No other induction within the explant. Below, the implant. ($\times 90$.)
- Fig. 14. Exp. ser. IV. The mesenchyme is differentiated around the implant. No other tissue induced within the explant. ($\times 90$.)
- Fig. 15. Exp. ser. I. Above, a naked neural mass. Within the epidermal converging is a complex of the nose-type rudiments, of which the right above one is clearly delimited from the other and provided with a small cavity in its center, which continues to the epidermis. Right and left, a part of the implant sectioned. ($\times 90$.)
- Fig. 16. Exp. ser. I. Above, a brain-like induction. Below, the implant. Two lentoids are developed between the implant and the brain. ($\times 90$.)
- Fig. 17. Exp. ser. I. A large brain-like structure, with complicated cavity. Left, two small protrusions of the brain wall. ($\times 90$.)
- Fig. 18. A case of induction obtained by implantation of the living "head organizer" in the ectodermal explant. Right above, a nose-rudiment, left to it the optic vesicle. Below middle, the implanted archenteric roof within the induced mesenchyme. A small lentoid is shown just below the implant. ($\times 90$.)

Plate 4.

- Fig. 19. Inductive effect of glutathione (1/50 M, neutralized in agar) on the isolated presumptive ectoderm. A brain-like rudiment above, and a small neuralized structure below. ($\times 90$.)
- Fig. 20. Exp. ser. I. A small neural ball with a minute pigment-vesicle. Left below, a part of the implant. ($\times 90$.)
- Fig. 21. Exp. ser. I. Imperfect induction of the brain-type, accompanied by two rudiments of the nose-type. Many melanophores within the cavity. ($\times 90$.)
- Fig. 22. A piece of fresh ventral skin of the adult frog was implanted in the isolated ectoderm and induced a stretched neural tube accompanied by an otic lobe (not shown in the section). The tip of the process has a tail-bud-like structure. Below, the implanted skin. ($\times 36$.)
- Fig. 23. The maximal induction obtained with iron powder alone in the isolated ectoderm. Imperfect neuralization. ($\times 90$.)
- Fig. 24. Induction obtained with "Fesol." A small rudiment of the brain-type accompanied by an imperfect nose-type. ($\times 90$.)

PLATE 1



1



2



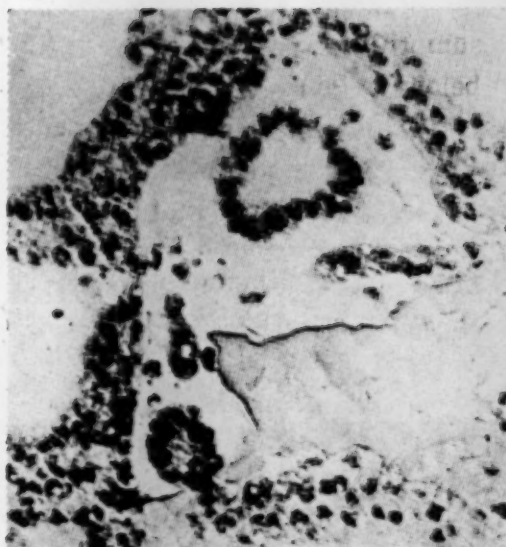
3



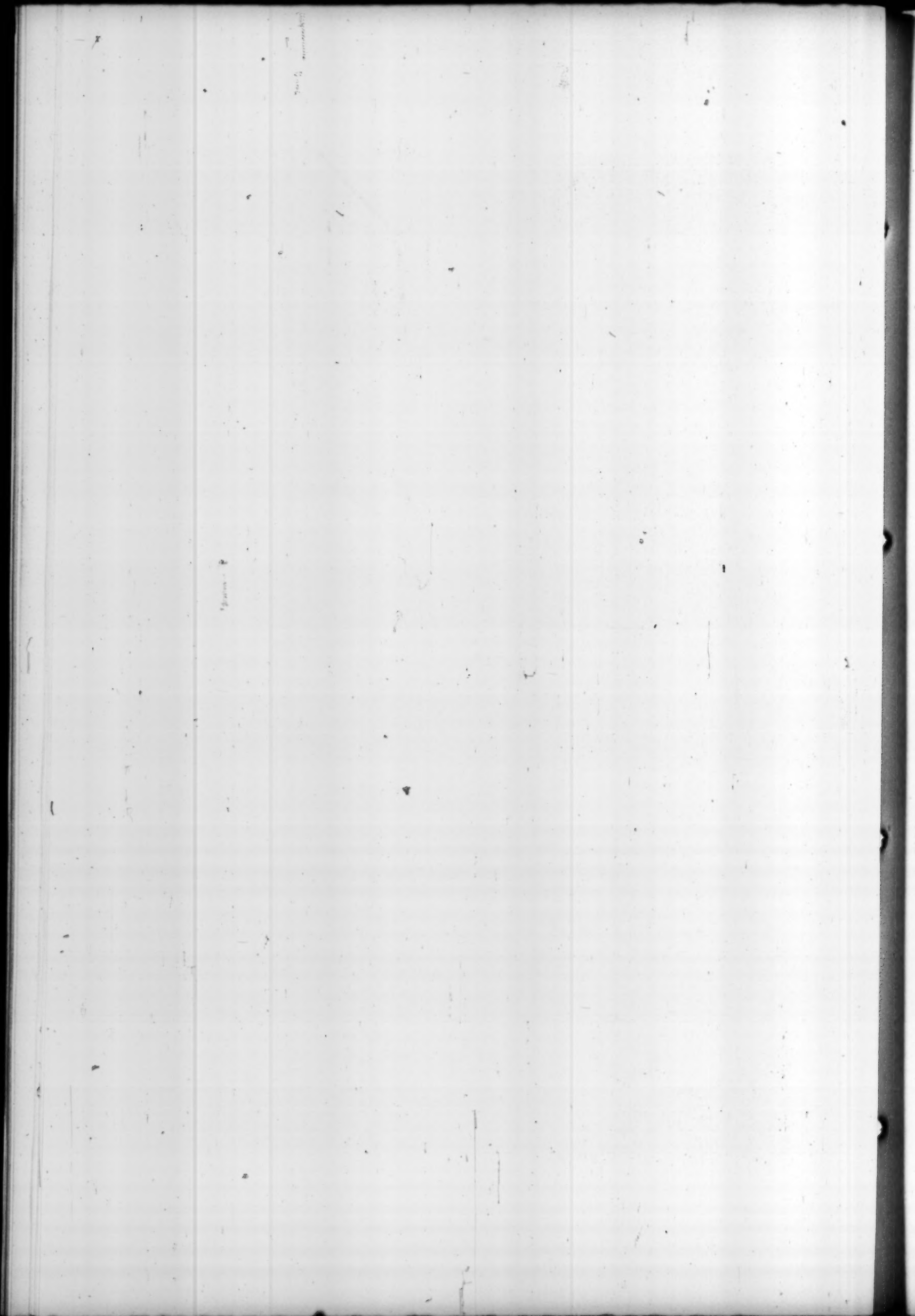
4

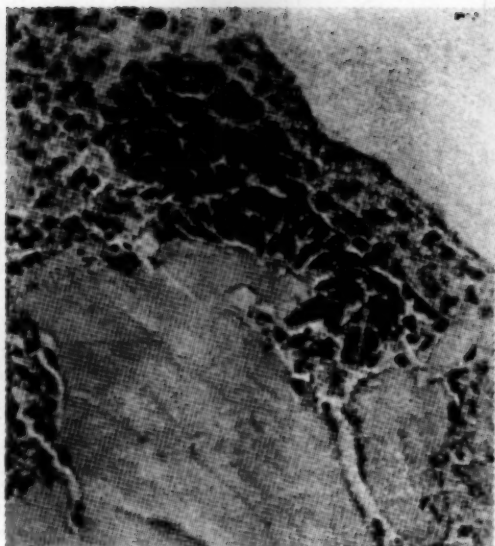


5

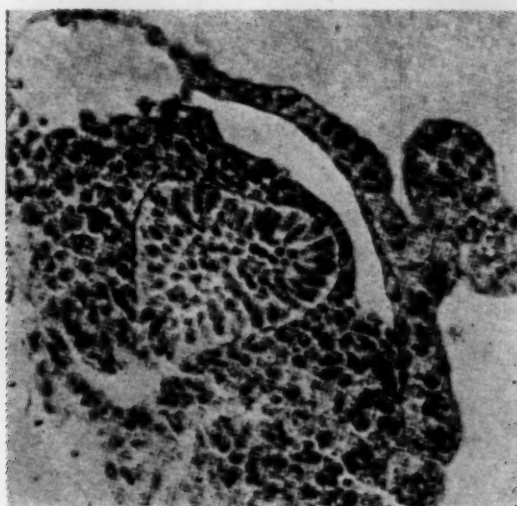


6





7



8



9



10



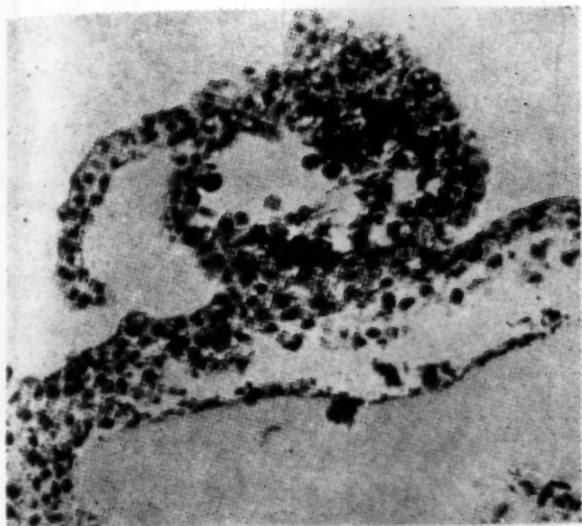
11



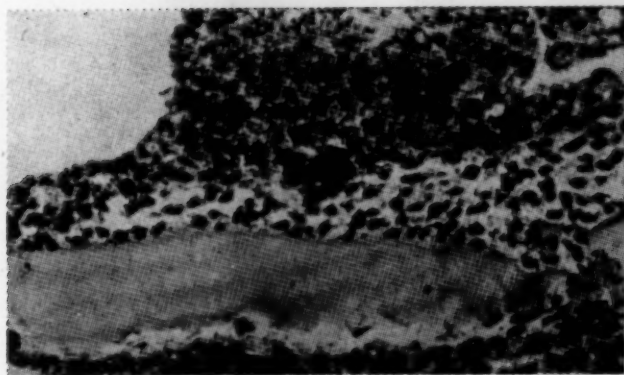
12



PLATE 3



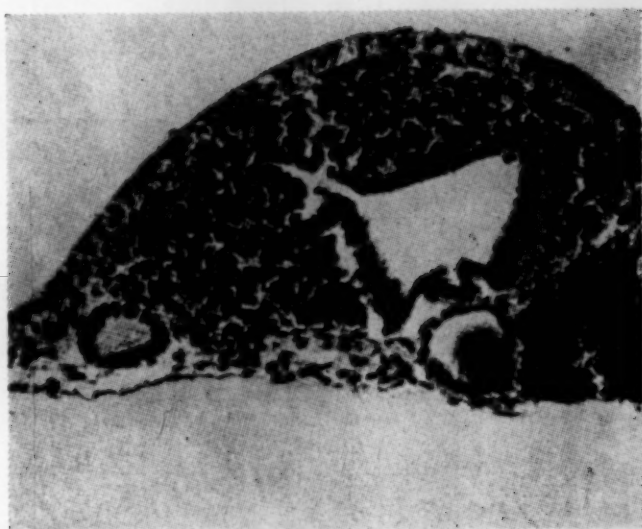
13



14



15



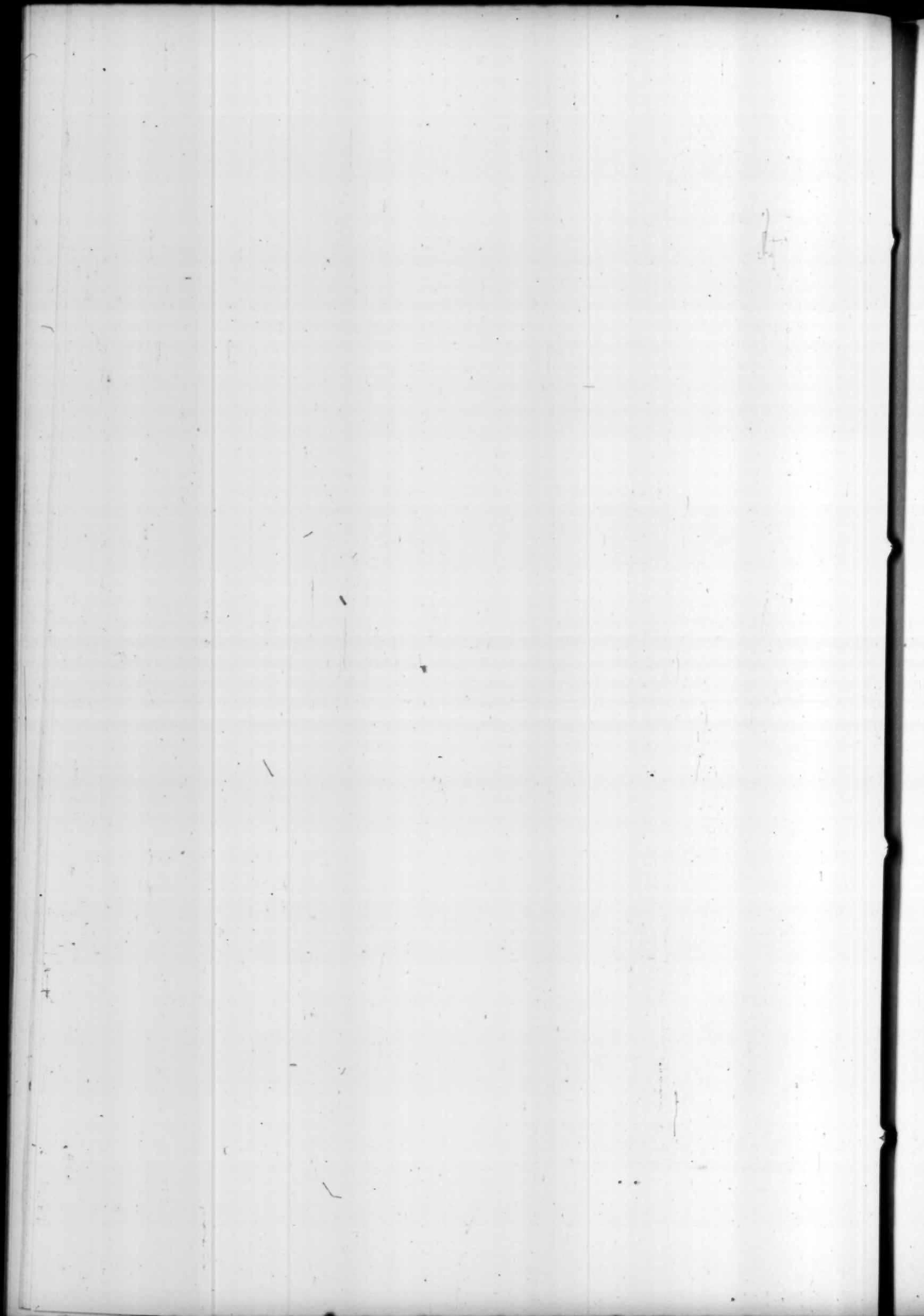
16



17

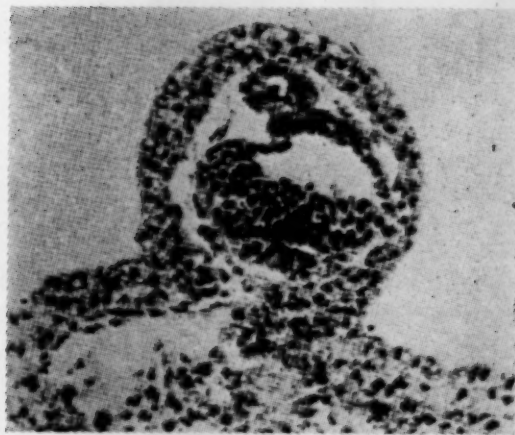


18

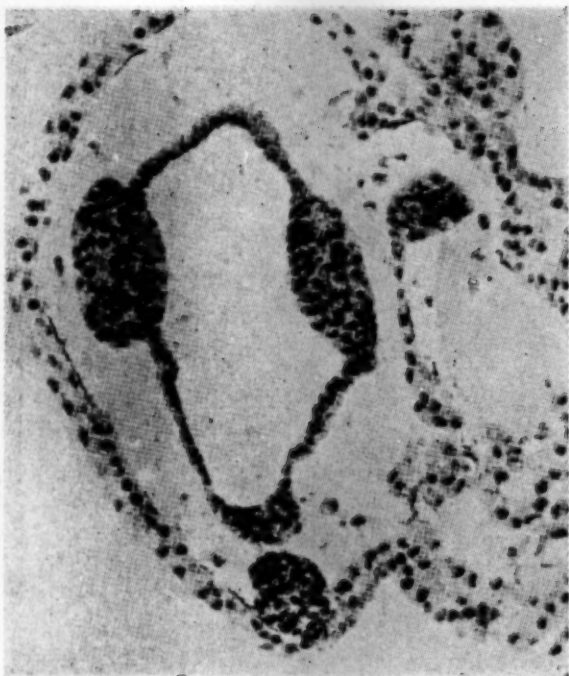




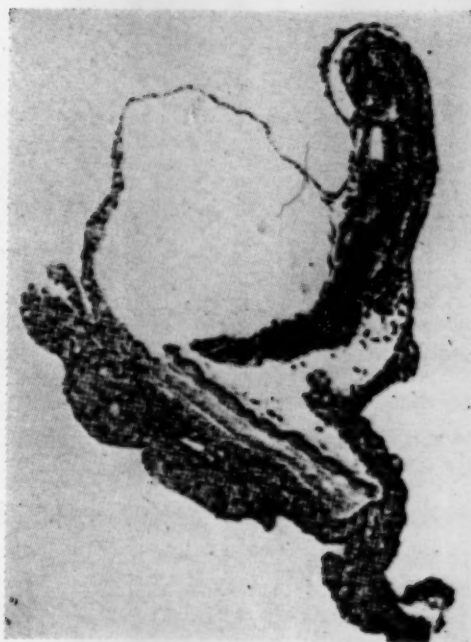
19



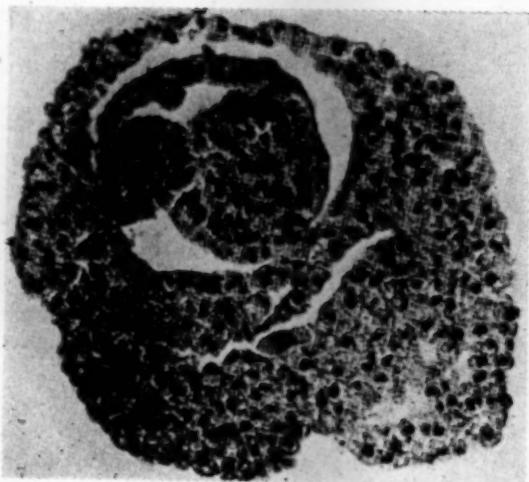
20



21



22



23



24



1-1
109 ✓

EMBRYOLOGIA

VOLUME 1 - No. 2

(PAGE 21-58)

(終冊)

TADAO SATO:

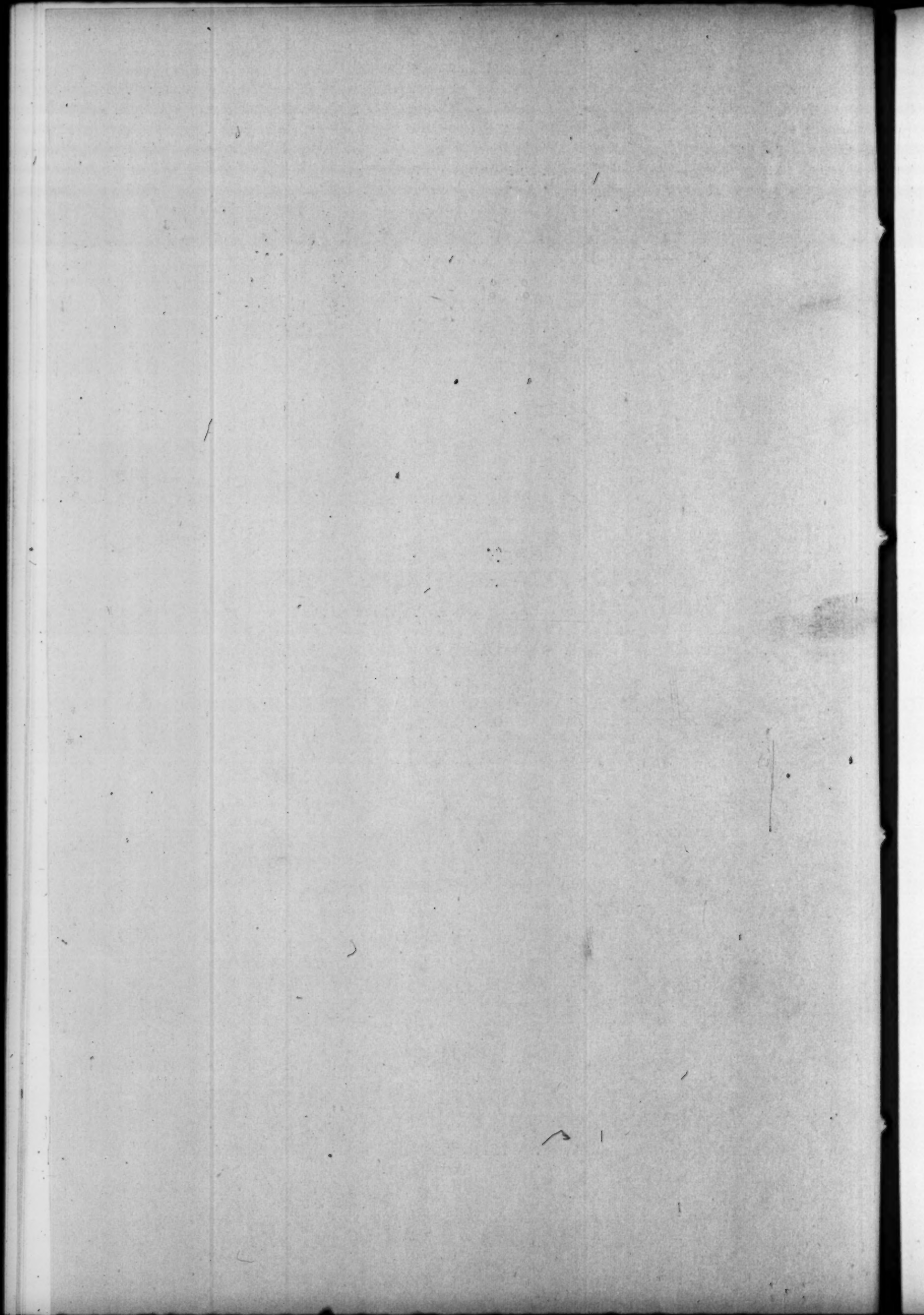
ÜBER DIE LINSENBILDENDE FÄHIGKEIT
DES PIGMENTEPITHEL
BEI *DIEMYCTYLUS PYRRHOGASTER*.

I. PIGMENTEPITHEL AUS DORSALEM AUGENBEREICH

BIOLOGICAL INSTITUTE, FACULTY OF SCIENCE
NAGOYA UNIVERSITY

March, 1951





ÜBER DIE LINSENBILDENDE FÄHIGKEIT DES PIGMENTEPITHEL^s BEI *DIEMYCTYLUS PYRRHOASTER*.

I. PIGMENTEPITHEL AUS DORSALEM AUGENBEREICH.¹⁾

Von

TADAO SATO,

Biologisches Institut, Naturwissenschaftliche Fakultät
der Nagoya Universität, Nagoya, Japan.

Herrn Professor ROSS G. HARRISON
zu seinem 80. Geburtstage
gewidmet.

Mit 5 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung	22
II. Material und Technik der Untersuchung	24
III. Darstellung der Ergebnisse	28
A. Die Linsenbildung aus dem mittleren, dorsalen Irisstück	28
a. Stück mit dem Irisrande (Pars iridica retinae)—Serie a	28
b. Stück mit der Pars ciliaris retinae—Serie b	33
B. Prüfung der Fähigkeit zur Linsenbildung aus dem isolierten Dorsalstück vom Pigmentepithel	36
a. Stück aus der Gegend von Ora serrata—Serie c	36
b. Stück direkt vor der Vena bulbi superior—Serie d	39
c. Stück direkt hinter der Vena bulbi superior—Serie e	40
d. Stück aus der Nachbarschaft von der Austrittsstelle des Opticus —Serie f	42
IV. Zusammengefaßte Übersicht und Erörterung der Ergebnisse	48
A. Vergleich der Häufigkeit der Linsenbildung von verschiedenen Stücken ..	48
B. Vergleich der Entwicklung der Regenerate aus verschiedenen Stücken ..	49
C. Über die Linsenpotenz des Pigmentepithels in verschiedenen Teilen des dorsalen Bulbusbereiches	53
D. Über das Moment der Linsenbildung aus dem Pigmentepithel	54
V. Zusammenfassung	55
Literaturverzeichnis	56

¹⁾ Die Kosten dieser Untersuchung wurden zum Teil gedeckt durch "the Governmental Research Fund for Science."

I. Einleitung.

Exstirpiert man die Linse vollständig aus dem ausgebildeten Tritonenaugen, ohne dabei irgendwelche Verletzung am medullaren Augenbecher zu verursachen, so regeneriert sich die Linse normalerweise aus dem mittleren Bereich des dorsalen Irisrandes (sog. WOLFF'sche Linsenregeneration). Schneidet man dabei den betreffenden Teil der Iris ab, so wird die neue Linse von dem einigermaßen geheilten Schnitttrande aus regeneriert, ohne daß vorher erst der fehlende Randteil neu gebildet werden muß (A. FISCHER 1900, S. 83-93, H. WACHS 1914, S. 416-417, 436). Setzt man nun endlich die Wunde noch weiter proximal, indem man an verschiedenen Stellen einfach den distalen Teil des Auges samt der Linse abträgt, so geht, wie schon bekannt, eine allgemeine Restitution des Auges von statten. Selbst wenn nämlich nur ein Drittel¹⁾ oder ein Viertel²⁾ des Bulbus in der Umgebung des N. opticus stehen gelassen wird, so wird das Auge in allen seinen Teilen, ja sogar mit der Linse, wieder hergestellt. Diese entsteht dabei erst dann, wenn die Retina sich regeneriert hat, von dem neugebildeten, dorsalen Irisrande aus, also von dem dorsalen Umschlagsrande des zurückgebliebenen Pigmentepithels aus (C. BONNET 1781, BLUMENBACH 1787, PHILIPPEAUX 1880 und vor allem COLUCCI 1891).³⁾

Alle diese Tatsachen weisen darauf hin, daß die linsenbildende Fähigkeit nicht nur auf die Iriszellen am Pupillarrande beschränkt ist, sondern auch den Zellen am basalen Iristeile zukommt, ja sogar auch noch weiter proximalwärts bis zu den Zellen des Pigmentepithels zugeteilt sein kann.

Die Verteilung der *Linsenpotenz auf der Iris* wurde von mir bei den Larven von *Triton taeniatus* geprüft (T. SATO 1930, 1935), wobei allerdings wegen der Kleinheit des Tieres nur hinsichtlich der Iris als ganzes berichtet werden konnte. Y. MIKAMI (1937, ausführlicher 1941, S. 271-275) führte den gleichen Versuch mit dem ausgewachsenen, japanischen Wassermolche durch, und er konnte die obige Tatsache bestätigen. Er fand nämlich, daß die dorsalen Irisstücke, ausgeschnitten aus den verschiedenen Bezirken, d.h., nicht nur aus der pupillaren Gegend, sondern auch aus dem basalen Teil, in die soeben entlinste Augenkammer verpflanzt, dort in verschiedener Häufigkeit eine Linse bilden. Die aus der mittleren Gegend entnommenen Irisstücke, auch wenn sie aus dem basalen Bereich stammten, bildeten dabei erwartungsgemäß am häufigsten die Linse.

Was aber die *Linsenpotenz der noch weiter proximal gelegenen medullaren Augenhäute*, d.h. der Retina und des Pigmentepithels betrifft, so herrschen bis jetzt recht verschiedene Vermutungen, welche mehr oder weniger auf Zufallserscheinungen begründet sind (s. O. MANGOLD 1931, S. 321-322). Nur die Arbeit von Y. K. OKADA (1935) ist meines Wissens wohl die einzige, welche zu dieser Frage auf Grund experimenteller Entscheidungen eine Antwort zu geben versuchte. Er

¹⁾ Nach COLUCCI 1891, zitiert von H. WACHS 1920, S. 364.

²⁾ Ebenso nach COLUCCI, vergl. H. WACHS 1914, S. 385.

³⁾ Über Augenregeneration s. O. MANGOLD 1931, S. 306 ff; Ausführliches Referat älterer Arbeiten hierüber siehe H. WACHS 1920, S. 363-369.

ließ nämlich einen seiner Schüler, in Anlehnung an die Methode von H. PETERSEN (1921), ein Stück vom Cornealmesoderm an verschiedenen Stellen in den dorsalen Teil des Bulbus eines ausgewachsenen *Diemyctylus* verpflanzen, um die Wunde offen zu halten und möglicherweise, wie es PETERSEN bei den Larven von *Rana temporaria* gelungen war, eine Linsenbildung von dem Wundrande aus zu erzielen.¹⁾ Die Ergebnisse waren ganz eindeutig: Die Regeneration einer Linse oder mindestens einer Linsenblase kam *nur in dem vor der Ora serrata* gelegenen Bereich vor. Im Augenteile mit eigentlicher Retina geschah sie niemals (vergl. OKADA 1935, S. 117). Daraus zog OKADA nun den Schluß, daß bei ausgewachsenem *Diemyctylus* die Gegend von Ora serrata, wenn auch nicht ganz streng genommen, doch wohl die hinterste Grenze der Linsenpotenzverteilung darstellt (S. 118).

Der Schluß OKADAS, wenn auch so mit großer Vorsicht ausgedrückt ist, läßt sich also dennoch schwer mit der Tatsache vereinbaren, daß die Linse von den noch weiter hinten gelegenen Augenpartien aus, d.h. von dem mit der echten Retina versehenen Bereich aus gebildet werden kann.

Genau betrachtet, scheint die von OKADA angewandte Methode aber nicht geeignet zu sein, um diese Frage zu entscheiden; ein Experimentum crucis müßte nur darin bestehen, daß man die in Frage stehenden Gewebe (Pigmentepithel und Retina) einzeln aus dem Auge isoliert und, wie wir es bei der Iris getan haben, in die hintere Augenkammer eines soeben der Linse beraubten Auges implantiert und die Fähigkeit prüft, ob diese eben genannten Gewebe ihrerseits eine Linse bilden können.²⁾

Es scheint mir einerseits ziemlich aussichtslos aus der volldifferenzierten Retina eine Linse bilden zu können, und andererseits scheint mir, daß dies doch durch das Pigmentepithel wohl gelingen müßte, zumal weil seine hochgradige Umbildungsfähigkeit zur Retina bei der Restitution des Auges nach der totalen Retinaentfernung ja bekannt ist (H. WACHS 1920). Während unserer eigenen Versuche über die gleiche Erscheinung beim ausgewachsenen *Diemyctylus pyrrhogaster*, bemerkte ich eine auffallend *ähnliche Fähigkeit des Pigmentepithels* und der Zellen *am Pupillarrande* vom operierten Auge. Die Zellen verlieren hier, genau wie dort, ihr Pigment, bevor sie sich zu einer Anlage der neuen Linse bzw. Retina umbilden (T. SATO und M. HASEGAWA 1950).

So entschied ich mich im Sommer 1949 das Experiment ausschließlich mit der Transplantation vom isolierten Pigmentepithel in die

¹⁾ Nach L. S. STONE (1950 b, S. 24) soll er mit J. H. VULTEE (1949) einen ähnlichen Versuch wie OKADA angestellt haben und zwar mit dem Ergebnisse, daß die Linsenpotenz der Iris nicht am Pupillarrande beschränkt, sondern ziemlich weit verbreitet ist. Eine ausführlichere Angabe über diese Arbeit ist mir leider nicht zugänglich; in der von STONE angegebenen Stelle in "Anatomical Record," 103, konnte ich sie nicht finden.

²⁾ Weitere Begründung hierfür s. T. SATO 1930, S. 452/453.

Augenkammer auszuführen. Die Ergebnisse zeigten über alle Erwartung *eine hohe Potenz des Pigmentepithels zur Linsenbildung* in der distalen Hälfte des Bulbus.¹⁾ Der Versuch wurde im folgenden Sommer 1950 ausgedehnt auf die proximalen Bulbushälfte, und zwar mit ebensogleichem Erfolg. Somit konnte ich meine *Vermutung über die Umbildungsfähigkeit des Pigmentepithels zur Linse bestätigen* und die Linsenpotenz des Epithels über die ganze dorsale Strecke nachweisen. Aus diesen Ergebnissen konnten wir zugleich auch außerdem einige Klarheit über die *Ursache der Verteilung der Linsenpotenz* gewinnen. Herr Dr. G. SCHWERSENZ, z. Zt. Kyôto, und Herr Professor A. MIGDALEK in der Nanzan-Universität zu Nagoya halfen mir bei der Überarbeitung des Manuskriptes der vorliegenden Arbeit, worüber ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank sage. Mein besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. SEIZÔ KATSUNUMA, dem Rektor der Nagoya Universität, der mir bei der Drucklegung dieser Arbeit mit Rat und Tat beigestanden hat.

Herrn Professor ROSS G. HARRISON, einem der besten Freunde meines unvergeßlichen Lehrers HANS SPEMANN, erlaube ich mir diese Arbeit in Verehrung und mit herzlichem Glückwunsch zu seinem achtzigsten Geburtstage zu widmen. Die jetzigen Umstände ließen mich dies leider nicht rechtzeitig verwirklichen, wofür ich ihn um besondere Nachsicht bitten muß.

II. Material und Technik der Untersuchung.

Als Material dienten ausschließlich die ausgewachsenen Exemplare von *Diemyctylus* (= *Triturus*) *pyrrhogaster*, welche ich im ersten Versuchsjahr (1949) aus Kyôto-, im zweiten Jahr zum Teil auch noch aus der Mié-Präfektur erhalten konnte. Der Ausgang der Versuche zeigte jedoch bei beiden aus verschiedenen Gegenden stammenden Tieren keine wesentlichen Unterschiede, so daß man die Ergebnisse gemeinsam behandeln kann.

Bei der Operation gilt es zunächst, *einen Streifen vom Pigmentepithel entlang der dorsalen Mittellinie des Bulbus* sauber auszuschneiden und ihn *in gleich große Stücke von bestimmter Abgrenzung zu zerlegen*.

Praktisch wurde dies in der folgenden Weise ausgeführt: Zuerst wird der Kopf vom Unterkiefer abgetragen. Hierauf werden zwei, miteinander vertikal verlaufende Scherenschnitte gelegt, einmal quer vor dem Auge, ein andersmal parallel zum seitlichen Umriß des Kopfes hinter dem Auge. Mit einer Pinzette, wird das dadurch frei gewordene kaudale, seitliche Kopfstück gefaßt und mit ziemlicher Kraft die Haut, mit den beiden Augenlidern und Skelettstücken, von hinten nach vorn abgezogen und der Bulbus wird dadurch bloßgelegt. Der so präparierte Kopf wird mit der physiologischen Salzlösung nach KESSELYÁK (1936,

¹⁾ Eine vorläufige Mitteilung hierüber habe ich bereits auf einer Bezirksversammlung der Japanischen Zoologischen Gesellschaft in Toyama, am 4. Juni 1950 gegeben.

S. 333) sorgfältig gewaschen um das Blut und das durch den groben Wundreiz sezernierte Hautdrüsensekret zu entfernen. Sodann wird der Kopf in die eben genannte Salzlösung gebracht und auf dem Boden des Operationsschälchens mittels Insektennadeln in Bauchlage befestigt.

Hierauf werden mit Hilfe von Pinzette und Schere die episcleralen Gewebe mitsamt der Nerven und Blutgefäßen um das Auge weggesäubert und die dorsalen Augenmuskeln von ihren Ansätzen entfernt. Dadurch wird das Auge durch die Kontraktion der intakt bleibenden Muskeln auf der ventralen Seite ein wenig nach unten gerichtet, so daß man nun die Totalansicht über die dorsale Bulbusoberfläche, und zwar von der Cornea bis zu der Ansatzstelle des Augenspiegels vor sich hat. Auf der Mittellinie des Bulbus, ein klein wenig proximalwärts vom Äquator, d.h. dicht hinter der Ansatzlinie des dorsalen Teils des Retractors sind meistens ein, zuweilen zwei oder drei winzige Löcher auf der bläulich schimmernden Sclera zu sehen—die Austrittsstelle oder -stellen der Vena bulbi superior. Die Stelle des Durchtrittes vom Hauptast des Gefäßes ist regelmäßig durch die besonderen, wahrscheinlich auf der Sclera liegenden Pigmentzellen markiert. Man sticht die Spitze eines sichelförmig gebogenen Messerchens durch die Durchtrittsöffnung hindurch, und, die Schneide des Messerchens schief nach oben richtend, schneidet man die Sclera ein wenig meridional nach ihrem sehnenförmigen Bündelverlauf auf. Mittels einer scharfen Schere schneidet man durch den so entstandenen Schlitz die Sclera vorsichtig und genau in der queren Richtung etwa 1/5 ihres äquatorialen Umfanges auf. Diese quer gelegte Schnittlinie als Grundlinie benutzend, wird nun entweder nur nach distalwärts oder aber auch proximalwärts jeweils ein rechteckiges Stück von der Sclera abgeschnitten und von den darunter liegenden, inneren Augenhäuten vorsichtig abgeschält. Nach vorn wird zwar dabei die Schere über die corneosclerale Grenze hinweg bis etwa zur Mitte der Cornea geführt, so daß die Cornea und Sclera in einem Stück in ihrem dorsalen und mittleren Bereich abgelöst werden. Nach hinten reicht die Abnahme der Sclera bis zum Ansatz des Augenspiegels. Auf jeden Fall muß dabei peinlichst darauf geachtet werden, daß das Pigmentepithel ja nicht verletzt wird.

Die Chorioidea läßt sich zum Teil einfach mit der Sclera entfernen, zum Teil kann man sie leicht mit einem kleinen Wattebausch wegfegen bis die dünne, weiße Glashaut mit darunter haftendem Pigmentepithel in brauner Farbe zum Vorschein kommt. Dies gelingt eher in der hinteren Augenhälfte. Dagegen vor dem Äquator, besonders gegen die Ansatzstelle der Iris hin, ist eine restlose Entfernung der Chorioidea fast nicht möglich, denn hier liegt sie nämlich in mehreren Lamellen dicht und fest aufeinander. Verletzt man die darunterliegende Glashaut, so klappt die Wunde durch den inneren Druck des Auges sofort, die Retina und damit auch die Zellen des Pigmentepithels quellen rettungslos heraus und das Auge ist für die saubere Entnahme des letzteren verloren. Ich mußte daher für das Hauptziel der Untersuchung eine vollständige Entfernung der Chorioidea aufgeben und mich nur damit begnügen, diese möglichst vollständig zu entfernen.

Nun wird der Kopf ein wenig schief gestellt und mit einer Pinzette die Linse sorgfältig entfernt. Hierauf führt man sofort, bevor sich die Pupille zusammenzieht, ein Blatt einer scharfen Schere tief ins Auge und schneidet die Iris und das Pigmentepithel samt darauf haftender Glashaut in einem Streifen von

ungefähr 1-1,5 mm Breite heraus. Die *Retina* kann man dabei auch mit herausschneiden und nachher mittels feinen Nadeln vom Pigmentepithel ablösen, oder aber die Retina wird vorher durch die Pupille in toto herausgedrückt, so daß dann das Epithel allein in Streifen abgeschnitten werden kann.

Für die Orientierung um den so freigelegten Pigmentepithelstreifen in bestimmte Stückchen zu zerlegen, dient das oben erwähnte Blutgefäß (*Vena bulbi superior*) wiederum als das denkbar zweckmäßigste Kennzeichen, dessen Wurzelstück durch die ganze Prozedur hindurch erhalten bleibt und nach sorgfältiger Entfernung der Chorioidea hebt sie sich nunmehr deutlich weiß von dem braunen Hintergrund, dem Pigmentepithel, ab. Der Austritt des Gefäßes nämlich zeigt fast genau den Mittelpunkt der Strecke zwischen dem Irisansatz und dem Opticus-Austritt an. So durchschneidet man den Streifen zuerst einmal genau am Irisansatz, ein andermal an der Austrittsstelle des Gefäßes. Und jede drei so abgeschnittenen Stücke werden nochmals in querrer Richtung halbiert, so daß dann sechs Stückchen von ca. 1-1,5 mm Quadrat entstehen. Um eine etwaige

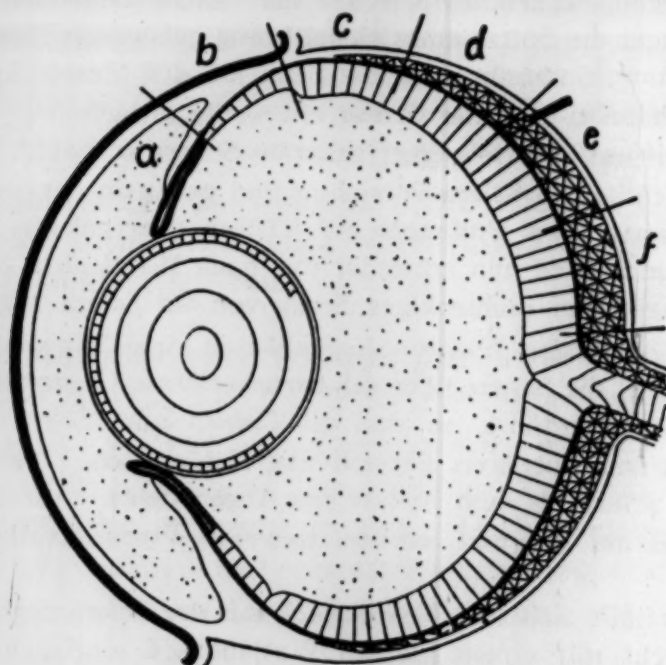


Abb. 1. Schema von der Aufteilung des Augenbecherbereiches zur Entnahme der Implantate.

Schädigung der Stückchen durch zu langes Verweilen in der Operationsflüssigkeit, welche allerdings während der obigen Behandlung öftersmal gewechselt werden muß, zu vermeiden, wurden zwar versuchsweise nur bei wenigen Fällen alle sechs Stückchen als Implantat benutzt (7 Fälle i. J. 1950). Bei den meisten Fällen wurden entweder nur die distalen vier (i. J. 1949) oder nur die proximalen zwei Stückchen (i. J. 1950) entnommen und weiter behandelt.

Um die Verwechselung der abgeschnittenen Stückchen zu vermeiden, legt man sie nacheinander in Grübchen des Wachsbodens, auf welchen die Bezeichnung der Bezirke entsprechend eingetragen worden war. Die Bezeichnung der Entnahmebezirke bzw. der Stücke (von *a* bis *f*) ist aus Abb. 1 zu ersehen.

Die *Implantation der Stückchen* war sehr einfach: den vorher in einer 2 %igen Urethanlösung betäubten Tieren wurde mit dem sichelförmigen Lanzettchen

die Cornea in ihrer Mitte weit aufgeschnitten und die Linse mittels einer Pinzette sorgfältig exstirpiert. Gleich hierauf wurde das Stückchen mit einer feinen Glasnadel durch den klaffenden Corneaspalt, auf den Boden der Augenkammer geführt, wobei es noch etwas gelenkt werden konnte. Bemerkt sei noch, daß ich dabei die Stückchen aus den proximalen Bezirken, deren Regenerationsfähigkeit vielleicht geringer sein könnte, regelmäßig vor denen der distalen Bezirke, also in *umgekehrter Reihenfolge* der Bezeichnung implantierte.

Außerdem wurden, in der Regel, die drei Stücke *a*, *c* und *e* ins rechte, die anderen drei Stücke *b*, *d* und *f* ins linke Auge implantiert, wobei möglicherweise die Stücke *a* und *b*, *c* und *d*, *e* und *f* jeweils paarweise in die beiden Augen ein und desselben Tieres zu verpflanzen versucht wurden. Wenn diese paarweise Implantation verhindert wurde, etwa infolge des frühzeitigen Aufwachens während der Operation oder dgl., so wurde vom Auge auf der entgegengesetzten Seite bloß die Linse exstirpiert, um nachher die Regenerationsvorgänge auf beiden Seiten miteinander vergleichen zu können.

Damit ist die Operation beendet. Die operierten Tiere wurden nun einzeln in eine Glasschale vom ca. 9 cm Durchmesser und ca. 6 cm Höhe, die mit etwa einem halben cm hohen Leitungswasser gefüllt war, gebracht und für einige Stunden auf die Bauchseite gelegt. Man ließ die Tiere in dieser Lage bis sie von selbst erwachten und erst am nächsten Morgen wurde neues Wasser zugegossen. Inzwischen heilte die Cornealwunde einigermaßen und in dieser Weise glaubte ich der Unannehmlichkeit am besten vorbeugen zu können, daß das eingesteckte Stück wieder aus dem Auge herausgedrängt wird, was aber in Wirklichkeit dennoch oft genug vorkam (s.w.u.). Die Tiere wurden mit Tubificiden und Rindfleisch gefüttert. Das Wasser wurde täglich einmal gewechselt.

Meiner Erfahrung nach bildet das implantierte Irisstück im linsenfreien Wirtsauge mit der gleichen Geschwindigkeit eine Linse wie aus dem dorsalen Irisrande des letzteren. Beim ausgewachsenen *Diemyctylus* wurde festgestellt, daß der Zeitpunkt nach der Operation, bis zu welchem das Stadium der Faserhügelbildung, d.h. das Stadium mit dem unverkennbaren Merkmal einer Linse erreicht wird, zwischen dem 14. und 18. Tage eintritt, also ungefähr am 17. Tage (T. SATO 1940, S. 583). So wurden die operierten Tiere mindestens 17 Tage nach der Operation am Leben gelassen und planmäßig in 4 Gruppen und zwar 17, 21-22, 25 und 30 Tage nach der Operation fixiert. Nur bei wenigen Tieren vom Versuch in 1950 geschah die Fixierung ausserdem noch am 23. und am 28. Tage nach der Operation.

Zur Fixierung wurde ausschließlich das BOUINSche Gemisch verwendet. Entkalkung in PERÉNYscher Lösung. Einbetten in Paraffin; Frontalschnitte von 15 μ ; Dreifachfärbung mit MAYERSchem saurem Hämalan, Erythrosin-Orange G oder Stückfärbung mit Boraxcarmin und mit Erythrosin-Orange G nachgefärbt. Herrn MICHIO HASEGAWA, dem Assistent vom hiesigen Institut,

danke ich für seine Hilfe bei der Herstellung der Präparate und photographischen Aufnahmen.

III. Darstellung der Ergebnisse.

In dieser Weise wurden insgesamt 90 Augen hinsichtlich ihrer Linsenpotenz vom dorsalen Bereich der Iris bzw. des Pigmentepithels untersucht: davon wurden 41 (P 1-P 41) i. J. 1949, wie oben gesagt, ausschließlich für die Prüfung von den 4 vorderen Bereichen *a* bis *d*, 42 (P 42-P 83) i. J. 1950 ausschließlich für die Prüfung von den 2 hinteren Bereichen *e* und *f*, und endlich 7 Augen (P 84-P 90) für die Prüfung von allen 6 Bereichen des Pigmentepithels verwendet. In Folgenden seien die Ergebnisse von einzelnen Serien zuerst getrennt vorgeführt, um daraus später eine gemeinsame Übersicht erhalten zu können.

A. Die Linsenbildung aus dem mittleren, dorsalen Irisstück.

a. Stück mit dem Irisrande (*Pars iridica retinae*)—Serie a. Dieses Stück enthält auf der äußeren Seite die Stroma iridica mit dem Ringgefäß der Iris und „Gold-Pigmente“, auf der inneren Seite die Pars iridica retinae, welche sich durch die tiefschwarze Färbung von dem angrenzenden, trüb-bräunlichen Bereich *b* mit der Pars ciliaris retinae auszeichnet (s. Abb. 1). Außerdem unterscheidet sich das Stück *a* von den anderen dadurch, daß es gleich nach der Entnahme durch die Kontraktion der Sphinktermuskeln ziemlich stark am Pupillarrande schrumpft, so daß das Stück gewöhnlich eine Trapezform annimmt, deren kleinere Grundlinie konkav ist.

In 1949 waren von den 41 Spenderaugen bei 39 Fällen die Isolierung und Implantation des Stückes *a* gelungen (s. Tabelle a-1). 4 Fälle davon fallen aus den in der Tabelle angegebenen Gründen von der weiteren Behandlung aus. Von den 35 restlichen Fällen war bei einem Falle (Pa 1) die Linsenbildung aus dem implantierten Stück auf einer früheren Stufe stehen geblieben, bei einem anderen Fall (Pa 12) war das Implantat in mehrere Pigmentklümpchen zerfallen und zeigte deutliche Anzeichen zur Degeneration. Bei den allermeisten Fällen (33 Tieren) dagegen lieferte das Implantat ein deutliches Linsenregenerat.

In 1950 gelang bei allen 7 Fällen die Implantation des Stückes *a* und das Implantat zeigte bei 6 Fällen 23 Tage später jeweils ein gut entwickeltes Linsenregenerat. Nur bei einem einzigen Fall (Pa 90) blieb die Regeneration aus dem Stück in einem Stadium von Linsenblase stehen, welche selbst bei längerer Aufzucht (28 Tage nach der Operation fixiert) noch keine Faserdifferenzierung aufwies.

Die Häufigkeit der Linsenbildung aus dem Stück *a* schwankte also in einzelnen Fixierungsgruppen zwischen 77,8-100% der brauchbaren Operationen; sie liegt im Durchschnitt etwa 92,9%. MIKAMI erhielt

Tabelle a-1: Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung bei Serie a.

Versuchsjahr:	Fixierungsgruppe: (Zahl d. Tage n. d. Operation)	Insgesamt operiert:	Unbrauchbare Fälle			Brauchbare Fälle						
			Im ganzen	Schnitte nicht geglückt	Implantat ausgestoßen	Im ganzen	Positive Fälle		Im ganzen	Negative Fälle		
							In Zahlen	In %		Veränderung des Implantats:		
										Linsenblase ohne Faserdifferenzg.	Teilw. Depigm. u. Zellwucherg.	Keine Depigm.; Degeneration
1949	17	10	2	1	1	8	8 ¹⁾	100,00	0	—	—	—
	21-22	11	1	—	1	10	10	100,00	0	—	—	—
	25	9	1	1	—	8	8 ²⁾	100,00	0	—	—	—
	30	9	0	—	—	9	7	77,78	2	—	1	1
	Sa.	39	4	2	2	35	33	88,57	2	0	1	1
1950	23-28	7	0	—	—	7	6	85,71	1	1	—	—
Im ganzen		46	4	2	2	42	39	92,86	3	1	1	1

¹⁾ Bei einem Fall davon Verschmelzung der Impl.-Linse mit der W.-Linse.

²⁾ Bei drei Fällen davon ebenso Verschmelzung der Regenerate.

von dem entsprechenden Stück (II, siehe Y. MIKAMI 1941, S. 273) den Wert von 84%. Zieht man die Umstände in Betracht, daß das Stück *a* bei meinem Versuch immer *zuletzt* von allen anderen Stücken zur Implantation kam, d. h. also am längsten in der Operationsflüßigkeit verweilte und daher am schwersten geschädigt sein könnte, so darf der gewonnene Häufigkeitswert doch als recht hoch bezeichnet werden. Bei noch schnellerer Implantation könnte man sicher den Fall, bei welchem das Implantat zerfallen war, vermeiden (Hierzu vergleiche T. SATO 1933, S. 52-53).

Die 39 positiven Fälle dieser Serie lassen sich nach der *Lage der Implantatslinse im Auge* in folgender Weise einteilen: Bei 1 Fall (Pa 39) lag die Implantatslinse in vorderer Kammer, bei 4 Fällen (Pa 6, 27, 30, 89) lag sie in hinterer Kammer und bei 34 Fällen lag sie in der Pupillargegend.

Von den 34 Fällen, bei denen die Linsenbildung aus dem Stück in der bezweckten *Pupillargegend* erfolgte, ist bei 4 Fällen (Pa 5, 21, 23, 37) die Implantatslinse mit der Wirtslinse verschmolzen, so daß ein mehr oder weniger vollkommenes, einheitliches Riesenregenerat mit doppelten Faserzentren entstanden ist. An den 30 restlichen Fällen, bei denen die beiden Linsenregenerate mehr oder weniger

Tabelle a-2: Messungsergebnisse des

Fix-Gruppe: (Zahl d. Tage n. d. Oper.)	Nr. des Falles Pa-	Wirtslinse		Implantatslinse	
		Stadium	Durch- messer (L)	Stadium	Durch- messer (L')
17	33	9	275 ^μ	8/9	295 ^μ
	34	9	375	9	347,5
	35	9	355	9	280
	36	9	267,5	8	270
	38	9	345	9	312,5
	40	9	347,5	9	285
	Durchschn.	—	327,5	—	298,3
21	7*	9(+)	232,5	11	370
	8	11	380	11	400
	25	10	350	11	407,5
	26	10	382,5	11	350
	29	—	—	10/11	—
	31†	10/11	417,5	9/10	277,5
	Durchschn.	—	371,1	—	366,1
22	19	11	392,5	10/11	355
	20	11	442,5	11	402,5
	Durchschn.	—	371,1	—	366,1
23	84	>11	—	>11	—
	85	11	465	11	372,5
	86	11	—	11	—
	87	11	440	11	370
	88†	11	440	10	300
	Durchschn.	—	448,3	—	347,5
	Durchschn.	—	448,3	—	347,5
25	4	11(-)	445	12	415
	9	12	430	11	337,5
	22	11	470	11(-)	450
	24	11	455	12	445
	Durchschn.	—	450	—	411,9
30	2	12	395	11	370
	3†	11	460	10	325
	13*	13	425	11	452,5
	15*††	13	520	9?	145
	16†	12	500	11	372,5
	17	11	535	11	455
	18	—	—	11	440
	Durchschn.	—	472,5	—	365,7

Durchschnitt im ganzen:

Linsendurchmessers bei der Serie a.

Verhältnis L'/L in %	Bemerkungen
107,3	Impl. bildet außerdem noch eine winzige Linse.
92,7	Impl. bildet außerdem eine große Blase vom depigm. Epithel
78,9	Pigmente im Impl.-Linsnlumen.
100,9	
90,6	Große Pigm.-masse im Lumen der Impl.-Linse.
82,0	Impl. bildet außerdem an 2 Stellen Linsenblasen.
92,1	
159,1	W.-Linse krankhaft, Vakuolen in Fasermasse.
105,3	Impl.-Linse doppelzentrisch. Impl. stark gewuchert.
116,4	
91,5	
—	{W.-Linse in Degeneration und Impl.-Linse gesprungen, {daher von der Messung Abstand genommen.
66,5	
90,4	Impl.-Linse doppelzentr. Große Pigm.-masse im Lumen.
91,0	
102,9	
—	Linsenkerne bei der Schnittherstellung gesprungen.
80,1	
—	Linsen gesprungen, Messung nicht möglich.
84,1	
68,2	
77,5	
93,3	
78,5	
95,7	Impl.-Linsenkern verdoppelt.
97,8	
91,3	
93,7	
70,7	
106,5	
27,9	
74,5	
85,0	
—	Regeneration des Wirtsauges ist völlig unterblieben.
76,4	
89,52	

weit getrennt voneinander lagen, wurden die *Entwicklungsstadien*¹⁾ und die *Größe* der Wirts- und Implantatslinsen bestimmt bzw. gemessen²⁾ und ihre Größenverhältnisse berechnet. Mit einigen Erläuterungen in morphologischer Hinsicht seien die Ergebnisse tabellarisch zusammengestellt (Tabelle a-2).

Es stellen sich aus der Tabelle die folgenden Punkte heraus:

1.) Bei 11 Fällen (39,3%) zeigten die beiden Regenerate genau dieselbe Entwicklungsstufe. Bei 12 Fällen (42,9%) war das Wirtsregenerat auf einem höheren Entwicklungsstadium als die Implantatslinse. Bei 5 Fällen (17,9%) war das Verhältnis umgekehrt; die Implantatslinse zeigte höhere Entwicklungstufen als die Wirtslinse. Diese Stadienunterschiede der beiden Linsen waren jedoch nur gering; bei 14 Fällen im ganzen (50%) beträgt der Unterschied eine Stufe oder noch weniger, noch deutlichere Unterschiede zeigten nur 3 Fälle (10,7%).³⁾ Damit erfährt meine alte Angabe bei demgleichen Versuche bei *Triton*-Larven, „daß der obere Irisrand bei der Umbildung zur Linse mit gleicher Geschwindigkeit dieselben Stufen durchläuft, gleichgültig, ob er herausgeschnitten und in ein anderes Auge verpflanzt oder im normalen Zusammenhang geblieben ist,“ doch kaum wesentliche Veränderungen (vergl. T. SATO 1930, S. 464).

2.) Die Implantatslinsen sind im allgemeinen kleiner als die Wirtslinsen, jedoch dieser Größenunterschied beider Regenerate beträgt im Durchschnitt ungefähr nur 10% in der Länge des Durchmessers.

¹⁾ Die *Stadienbestimmung der Regenerate* geschah nach den in meiner letzten Arbeit benutzten Einteilungsmerkmalen. Hier seien nur die in Frage kommenden Stadien auszugsweise wiedergegeben (vergl. T. SATO 1940, S. 575-579).

Stadium 8. Ausbildung des Faserkernes. Die Fasern werden hier nur von den hinteren Wandzellen geliefert; die sog. Epithelgrenze im Sinne eines Bildungsherd für neue Fasern ist noch nicht oder nur sehr unklar vorhanden. Der Faserkern nimmt den größten Teil des Linsenlumens ein.

Stadium 9. Epithelgrenze deutlich; das Linsenepithel beginnt an der Grenze eine regelmäßige, meridionale Anordnung einzunehmen; die Linsenfasern ordnen sich jetzt zu radiären Lamellen.

Stadium 10. Die hintere Linsennaht wird deutlich. Auch vorn wird der Faserkern von neuen, konzentrisch angeordneten Fasern umschlossen.

Stadium 11. Durch weitere Zunahme der Fasern wird der Faserkern jetzt fast überall gleichmäßig umhüllt und wird so mehr in die Mitte der Linse verlagert. Die Zellkerne oder ihre Reste sind noch im Faserkern vorhanden.

Stadium 12. Vollständiger Kernschwund im Faserkern.

Stadium 13. Kernschwund auch in den Hauptfaserschichten.

²⁾ Auch die Methode, die *Größe der Regenerate* zu bestimmen, war die gleiche wie früher während meiner letzten Arbeit. Der Mittelwert der Durchmesser in drei Richtungen (im axialen, rostro-caudalen und dorso-ventralen Durchmesser) wurde als Länge des Durchmessers eines Regenerates bezeichnet (vergl. T. SATO 1940, S. 585).

³⁾ Diese Fälle sind in der Tabelle a-2 mit * gekennzeichnet,

Im Einzelnen schwankt der Durchmesserunterschied der beiden Linsen ziemlich verschiedentlich. Bei einem Fall (Pa 7, mit einem schwarzen Kreis vermerkt) ist der Durchmesser der Implantatslinse demjenigen der Wirtslinse um über 50% überlegen, aber es handelt sich, wie in der Tabelle bemerkt, sicher um eine krankhafte Entwicklung der Wirtslinse, und man könnte den Fall vielleicht hier außer Acht lassen. Es liegen andererseits 5 Fälle im ganzen (19,2%) vor, bei denen der Durchmesser der Implantatslinse mehr als 25% kleiner ist als derjenige der Wirtslinse. Bei 4 Fällen davon konnte man die Stadien der kleineren Implantatslinse ohne große Schwierigkeit bestimmen (solche Fälle sind in der Tabelle mit einem Kreuzchen † vermerkt). Bei dem einzigen Fall (Pa 15, mit einem Doppelkreuz †† vermerkt), wo der Durchmesserunterschied mehr als 70% beträgt, konnte man dagegen auch das Entwicklungsstadium nicht mit Sicherheit bestimmen. Die kleine Implantatslinse zeigte im Innern eine Disharmonie der Faserentwicklung auf.

3.) Das implantierte Irisstück liefert außer einer einzigen Linse öfters noch üppiges Zellmaterial zur Bildung der *überzähligen Linsen oder Linsenblasen*. Bei solchen Fällen können die Linsen in verschiedener Weise miteinander verschmelzen oder verwachsen. So entsteht nicht selten auch eine an sich doppelzentrische Linse aus dem einzigen Implantatsstück (vergl. auch T. SATO 1930, S. 469-471, 477-484). Die Ursache der Fälle, bei denen die Implantatslinse größer als die Wirtslinse ist, liegt mindestens zum Teil¹⁾ darin, daß die Implantatslinse an sich verdoppeltes Faserzentrum besaß, was letzten Endes auf übermäßige Wucherung depigmentiertes Zellmaterials vom Implantat selbst zurückzuführen ist. Die Entstehung einer solchen doppelzentrischen Linse seitens der Wirtsirris allein kommt nach meiner Erfahrung nur sehr selten vor (vergl. T. SATO 1930, S. 481-483). Bei den diesmaligen Versuchen kam kein einziges *sicheres* Beispiel vor (s. S. 34, Fußnote).

b. Stück mit der Pars ciliaris retinae—Serie b.

Dieses Stück enthält die dorsale Hälfte der mittleren oberen Iris. Es zeichnet sich äußerlich durch viele Goldpigmente, innerlich durch eine eigentümliche bräunlich-graue Farbe aus, welche durch das innere Irisblatt hervorgerufen ist, welches hier als ein dünnes, farbloses Membran fest auf das äußere Blatt anhaftet, nämlich die Pars ciliaris retinae. Dorsalwärts grenzt sich das Stück durch die Ora serrata mit dem Stück c ab. (Abb. 1).

In 1949 wurden aus den 41 Spenderaugen das Stück b 40 mal mit Erfolg abgeschnitten und ins Wirtsauge verpflanzt. Ein Tier (Pb 7) ging jedoch frühzeitig zu Grunde und es gelangten wiederum 39 Tiere zur mikroskopischen Untersuchung. Sie zeigten, daß bei allen 30 Fällen das Implantat im Wirtsauge zurückblieb (s. Tabelle b-1).

¹⁾ Eine andere mögliche Ursache dafür liegt sicher darin, daß die Implantatslinse, besonders in ihren früheren Bildungsstufen, oft eine bedeutsame Masse von mehr oder weniger aufgelockerten Implantatslamellen oder von Pigmentklumpen in ihrem Linsenlumen einschließend, enthält.

Tabelle b-1: Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung bei Serie b.

Versuchsjahr:	Fixierungsgruppe: (Zahl d. Tage n. d. Operation)	Insgesamt operiert	Brauchbare Fälle									
			Im ganzen	Positive Fälle		Zweifelhafte Fälle*	Negative Fälle					
				In Zahlen	In %		Im ganzen	Veränderung des Implantates:				
								Linsenblase ohne Faserdifferzgr.	Teilw. Depigm. u. Zellwucherg.	Auflockerg.; Unvollkom. Depigm.	Keine Depigm.; Degeneration	Retina-Regenerat
1949	17	10	10	4 ¹⁾	40,00	0	6	3	3	—	—	—
	21-22	10	10	6 ²⁾	60,00	1	3	—	1	2	—	—
	25	10	10	9 ³⁾	90,00	0	1	—	—	—	—	1
	30	9	9	4	44,44	2	3	—	2	1	—	—
	Sa.	39	39	23	58,97	3	13	3	6	3	0	1
1950	23-28	7	7	2	28,57	0	5	—	1	2	1	1
Im ganzen:		46	46	25	54,35	3	18	3	7	5	1	2

¹⁾ Bei einem Fall davon doppelzentrische Verschmelzung der Implantats-Linse mit der Wirtslinse.

²⁾ Bei einem Fall davon ebenfalls.

³⁾ Bei 3 Fällen davon ebenfalls Verschmelzung der beiden Regenerate.

Von den 39 Fällen regenerierte das Stück 22 mal eine Linse. Die Häufigkeit der Linsenbildung aus dem Stück beträgt also für 1949 $23/32 = \text{ca. } 59\%$.

In 1950 erzielte ich nur zweimal von 7 Implantationen des Stückes b ein deutliches Linsenregenrat, d. h. also nur bei etwa 28,6% der brauchbaren Operationen. Die geringere Häufigkeit der Linsenbildung in diesem Jahr beruht wahrscheinlich darauf, daß das Implantat diesmal länger außerhalb des Körpers lag und daher mehr seine linsenbildende Fähigkeit eingebüßt hatte, als im vorigen Jahr.

Auf jeden Fall bekommt man einen *Häufigkeitswert* von 54,35%, wenn man die beiden Jahresversuche zusammenrechnet. MIKAMI erzielte von dem entsprechenden Irisstück (Stück 5, s. MIKAMI 1941, S. 273) einen besseren Erfolg nämlich 76%, was meines Erachtens sicher auf seine wohl schnellere Implantation des Stückes zurückzuführen ist.

* Als „zweifelhafte Fälle“ nenne ich solche, bei denen das Auge nur eine einzige Linse regeneriert hat, welche eine deutliche Doppelstruktur in ihrem Faserkern aufweist, ohne daß jedoch ein ganz sicherer Beweis dafür vorliegt, ob die beiden Faserkerne aus dem Wirtsauge selbst, oder einer dieser beiden Kerne aus dem Implantat herrührt.

Tabelle b-2: Messungsergebnisse des Linsendurchmessers bei der Serie b.

Fix-Gruppe: (Zahl d. Tage n. d. Oper.)	Nr. des Falles Pb-	Wirtslinse		Implantatlinse		Verhältnis L'/L in %	Bemerkungen
		Stadium	Durch- messer (L)	Stadium	Durch- messer (L')		
17	33	9/10	340 μ	8	175 μ	51,5	Impl. bildet außer einer Linse noch eine augenähnliche Retinamasse.
21	30	10/11	325	10	315	96,9	Impl.-Rest bildet eine große Blase vom z. T. depigmentierten Epithel.
22	20	11	450	10	235	52,2	
23	89	10	410	9/10	280	68,3	Impl.-Rest im Lumen der Linse gewuchert.
25	4	12	465	{ 9 11	180 292,5	(38,7) ¹⁾ (65,1)	Beide Linsen in der Pupille; die erstere mehr cranialwärts, die zweite mehr caudalwärts verschoben. ²⁾ : Diese Linse liegt völlig in der vorderen Kammer, ihr Stadium ist unbestimmbar, da die Faserdifferenzierung disharmonisch.
	22	11	472,5	{ — 12	120 ²⁾ 305	(25,4) (64,6)	
	24	11	500	12	365	73,0	
30	2	13	415	12/13	440	106,0	Impl. bildet außer dieser Linse noch ein augenähnliches Gebilde.
	3	11	370	10	415	112,2	
	16	12	555	12	377,5	68,0	
	Durchschn.	—	446,7	—	410,8	92,0	
Durchschnitt im ganzen ¹⁾ :						78,48	

¹⁾ In Klammern stehende Zahlen sind bei der Durchschnittsberechnung nicht verwertet.

Wir wollen nun die 25 positiven Fälle je nach der *Lage der Implantatslinse* einteilen: von ihnen sind bei 5 Fällen (Pb 6, 11, 19, 23, 39) die Implantatslinsen mit der Wirtslinsen verschmolzen und bildeten mehr oder weniger einheitliche Doppelgebilde. Von den 20 restlichen Fällen lag das Implantat entweder in der vorderen Kammer (bei 7 Fällen: Pb 5, 8, 10, 15, 21, 31, 84) oder in der hinteren Kammer verlagert (bei 3 Fällen: Pb 29, 37, 38). Die Ergebnisse der *Stadien- und Größenbestimmungen* der anderen 10 Fällen, bei denen das Implantat in der gewünschten Pupillargegend die Linse gebildet hatte, sind in Tabelle b-2 zusammengestellt.

Das, was ich bei der Serie *a*, (S. 32/33) gesagt habe über die Regenerationsstadien und Größe der Regenerate, sowie über das Verhalten des Implantates, gilt im wesentlichen Punkte auch bei der Serie *b*.

1). Die Wirtslinse zeigt einmal (10%) dasselbe Entwicklungsstadium wie die Implantatslinse. Bei 7 Fällen (70%) ist die Wirtslinse in der Entwicklung mehr oder weniger weiter fortgeschritten als die Implantatslinse. In einem Fall (10%) hat das Implantat eine kleinere und trotzdem besser entwickelte Linse gebildet als das Wirtsauge (Pb 22, die 2. Implantatslinse). Immerhin sind diese Stadienunterschiede meistens nur geringfügig.

2). Auch bei dieser Serie ist die Implantatslinse im allgemeinen kleiner als die Wirtslinse. Der Größenunterschied beider Linsen ist aber etwas deutlicher als bei der Serie *a*. Er beträgt hier ungefähr 21,5% in der Länge des Durchmessers.

3). Sowie bei der Implantation des Irisstückes *a*, bildet das Stück *b* auch überzählige Linsen.

Was wir bei der vorangehenden Serie *nicht* beobachtet haben, und, was wir weiterhin auch bei allen anderen Serien niemals finden werden, ist die Tatsache, daß das *Irisstück b* sich zum Teil nicht zu einer Linse, sondern zur Retina weiter entwickelte, sodaß als ganzes ein augenähnliches Gebilde entstand (s. Tabelle b-1). Bei einem Fall (Pb 16, s. Tabelle b-2) lieferte ein Teil des Implantates eine Linse, und bildete aus dem restlichen Teil, ziemlich unabhängig von ihr ein solches Gebilde. Einen derartigen Vorgang habe ich früher bei der Irisimplantation bei *Triton*-Larven beobachtet und beschrieben (T. SATO 1933, S. 71-76). Da es bei den sonstigen Serien niemals angetroffen wird, so muß hier wie damals behauptet werden, daß diese Retinamasse aus dem eigentlichen inneren Blatt, der Pars ciliaris entstanden ist.

B. Prüfung der Fähigkeit zur Linsenbildung aus dem isolierten Dorsalstück vom Pigmentepithel.

a. Stück aus der Gegend von Ora serrata—Serie c. Das von dieser Gegend abgeschnittene Pigmentepithelstück kennzeichnet sich vor al-

lem, wie gesagt, durch die auf seiner äußeren Seite, auf der Glashaut, fest anhaftenden, fetzenartigen, schwarzen Chorioideareste. Auf der inneren Seite sind alle Schichten der Retina sorgfältig entfernt, so daß hier die in einfacher Lage geordneten, tief braunen Epithelzellen bloßgelegt wurden.

In 1949 wurde ein solches Stück aus allen 41 Spenderaugen herausgeschnitten und als Implantat verwendet. Von den 41 Tieren dieser Serie fiel aber eins (Pc 30) aus, da es nicht ganz von der Narkose aufwachte und frühzeitig (4 Tage nach der Operation) fixiert werden mußte. Bei 6 weiteren Fällen (Pc 4, 10, 12, 23, 24, 33) war bei der Schnittuntersuchung das Implantat nicht im Auge wiederzufinden; das Stück mußte also während der Aufzucht aus dem Auge herausgedrängt worden sein. So blieben 34 Fälle als brauchbar zurück, von welchen nun bei 8 Fällen, d.h. also 23,5%, eine deutliche Linse aus dem Implantat gebildet wurde (s. Tabelle c-1).

Tabelle c-1: Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung bei Serie c.

Versuchsjahr:	Fixierungsgruppe: (Zahl d. Tage n. d. Operation)	Insgesamt operiert	Unbrauchbare Fälle	Brauchbare Fälle									
				Im ganzen	Positive Fälle		Zweifelhafte Fälle	Negative Fälle					
					In Zahlen	In %		Im ganzen	Veränderung des Implantates:				
									Linseblase mit beginnend. Faserdiff.	Linseblase ohne Faserdifferzrg.	Teilw. Depigm. u. Zellwucherg.	Auflockerung; Unvollkom. Depigm.	Keine Depigm.; Degeneration
1949	17	10	1	9	0	0	1	8	1	1	5	1	—
	21-22	10	0	10	5 ¹⁾	50,00	0	5	3	1	—	—	1
	25	10	4	6	1	16,67	1	4	—	—	2	—	2
	30	10	1	9	2	22,22	2	5	—	—	1	1	3
	Sa.	40	6	34	8	23,53	4	22	4	2	8	2	6
1950	23-28	7	0	7	1	14,29	1	5	—	2	—	1	2
Im ganzen :		47	6	41	9	21,95	5	27	4	4	8	3	8

¹⁾ Bei einem Fall davon ist die Implantatslinse mit der Wirtslinse verschmolzen.

In 1950 wurden 7 weitere Versuche zu dieser Serie zugesetzt, jedoch leider nur mit einem einzigen positiven Fall.

Die *Häufigkeit der Linsenbildung* aus dem Stück c beim Zusammenrechnen der beiden Jahresversuche beträgt ca. 22%. Der Wert ist ja gering, aber immerhin zeigt der Versuch doch ganz deutlich,

daß die Linsenpotenz hinter der Iris nicht gleich auf Null absinkt, wie OKADA meint, sondern das Pigmentepithel hinter der Ora serrata, d.h. also von der Gegend der echten Retina, wenn es isoliert und in die Augenkammer verpflanzt wird, eine unverkennbare Linse liefern kann.

Was die *formal-strukturelle Beschaffenheit* dieser Linsen anbetrifft, so liegen leider nur 3 Fälle vor, welche ohne weiteres mit den Fällen der vorangehenden Serien zu vergleichen sind. Von den 9 positiven Fällen lag nämlich die Implantatslinse bei 4 Fällen (Pc 7, 8, 16, 21) in der vorderen Kammer, bei einem Fall (Pc 89) in der hinteren Kammer. Von den 4 restlichen Fällen, bei denen die Linsenbildung aus dem Implantat in der pupillaren Gegend erfolgte, fällt außerdem noch einer aus, weil das Regenerat aus dem Implantat sich mit dem Wirtsregenerat hochgradig verschmolzen hatte (Pc 19). In der Tabelle c-2 sind die Ergebnisse der Stadien- und Größenbestimmung bei den drei Fällen zusammengestellt.

Wir sehen aus der Tabelle, daß bei einem der drei in Frage stehenden Fällen die Regeneration aus dem Stück *ganz normal vonstatten ging*, d.h., daß die Implantatslinse weder in der inneren Struktur noch in der Größe der Wirtslinse nachstand (Pc. 3). Bei einem anderen Fall (Pc 28) zeigte dagegen die Implantatslinse ziemlich deutliche Verspätung in der Entwicklung und im Wachstum gegenüber der Wirtslinse. Immerhin konnte man bei ihm das Entwicklungsstadium der Implantatslinse ohne weiteres bestimmen. Beim dritten Fall (Pc 27) ist der Durchmesserunterschied der beiden Linsen

Tabelle c-2: Messungsergebnisse des Linsendurchmessers in der Serie c.

Fix-Gruppe: (Zahl d. Tage n. d. Oper.)	Nr. des Falles Pc-	Wirtslinse		Implantatslinse		Verhältnis L'/L in %	Bemerkungen
		Stadium	Durch- messer (L)	Stadium	Durch- messer (L')		
21	27	10	422,5 μ	— ¹⁾	155 μ	36,7	¹⁾ Unbestimmbar, da die Faserdifferenzierung nicht normal. { Impl.-Rest bildet eine Blase pigmenthaltiges Epithels.
	28	10	425	8	215	50,6	
30	3	13	520	12/13	500	96,2	
Durchschnitt im ganzen:						61,14	

bedeutender und die Stadienbestimmung nicht mehr mit Sicherheit durchführbar, weil die Faserdifferenzierung zu weit von der Norm abweicht. Auf jeden Fall war bei diesen Fällen der Serie *c* mit *zu kleinen Implantatslinsen* zu bemerken, daß ein großer Teil des Implantatsstückes, mehr oder weniger sich auflockernd oder sogar depigmentierend und blasenartig wuchernd im Auge zurückgeblieben war. Ein nur *verhältnismäßig kleiner Teil des Zellmaterials* scheint sich demnach zur Linsenbildung beteiligt zu haben.

b. Stück direkt vor der Vena bulbi superior—Serie d. Die in dieser und in den folgenden Serien verwendeten Implantatsstücke bestanden fast ausschließlich nur aus einer dünnen Membran der Glashaut und einer Lage von Pigmentepithelzellen; die Chorioidea läßt sich hier leichter und gründlicher abziehen als in der Gegend von *c*. Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung der Serie *d* sind in der Tabelle *d-1* zusammengestellt.

Im Vergleich mit der Tabelle *c-1* zeigt Tabelle *d-1* klar, daß das Stück *d* hinsichtlich der *Linsenpotenz* nicht nur dem Stück *c* gleichwertig ist, sondern ihm *ein wenig überlegen* ist. Während dort bei

Tabelle *d-1*: Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung bei Serie *d*.

Versuchsjahr :	Fixierungsgruppe : (Zahl d. Tage u. d. Operation)	Insgesamt operiert	Unbrauch- Fälle dare	Brauchbare Fälle									
				Im ganzen	Positive Fälle		Zweifelhafte Fälle	Negative Fälle					
					In Zahlen	In %		Im ganzen	Veränderung des Implantates :				
									Linsenblase mit beginnend. Faserdiff.	Linsenblase ohne Faserdifferenzg.	Teilw. Depigm. u. Zellwucherung.	Aufflockerung ; Unvollkom. Depigm.	Keine Depigm. ; Degeneration
1949	17	10	1	9	1 ¹⁾	11,11	0	8	—	1	6	—	1
	21-22	10	1	9	5	55,56	1	3	1	—	—	1	1
	25	9	1	8	1	12,50	0	7	—	—	—	—	7
	30	9	2	7	1	14,29	2 ²⁾	4	—	—	—	1	3
	Sa.	38	5	33	8	24,24	3	22	1	1	6	2	12
1950	23-28	7	2	5	1	20,00	0	4	—	—	—	—	4
Im ganzen :		45	7	38	9	23,68	3	26	1	1	6	2	16

¹⁾ Bei diesem Fall ist eine hochgradige Verschmelzung der Wirts- und Implantats-Linse im Gange (Pd 40).

²⁾ Bei einem Fall davon (Pd 12) sind 2 Linsen im Auge vorhanden, welche beide vom Implantat gebildet zu sein scheinen; die Wirtsregeneration wurde dabei verhindert.

Tabelle e-1: Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung bei Serie e.

Fixierungsgruppe: (Zahl d. Tage n. d. Operation)	Insgesamt operiert	Unbrauchbare Fälle	Brauchbare Fälle									
			Im Ganzen	Positive Fälle		Zweifelhafte Fälle	Negative Fälle					
				In Zahlen	In %		Veränderung des Implantates:					
							Im ganzen	Linsenblase mit beginnend. Faserdiff.	Linsenblase ohne Faserdifferzgr.	Teilw. Depigm' u. Zellwucherung	Auflockerung; Unvollkom. Depigm.	Keine Depigm.; Degeneration
17	10	0	10	2	20,00	0	8	1	2	2	—	3
21	11	2	9	5	55,56	0	4	—	—	1	1	2
23	4	1	3	0	0	0	3	—	—	—	—	3
25	12	5	7	0	0	1 ¹⁾	6	—	—	—	1	5
28-30	10	2	8	2	25,00	0	6	1	1	—	—	4
Sa.	47	10	37	9	24,32	1	27	2	3	3	2	17

¹⁾ Pe 52, bei dem ist im Auge nur eine monozentrische Linse vorhanden, welche sicher aus dem Implantat gebildet worden ist; Regeneration des Wirtsauges ist dabei unterblieben.

die vordere Kammer verlagert, oder waren in das Gewebe der Cornea eingekleibt oder eingeschlossen und zerfielen dort in Pigmentklümpchen, ohne das geringste Anzeichen zur Linsenbildung aufzuweisen. Auch bei ziemlich vielen (10) Fällen konnte ich das Stück nicht im Auge wiederfinden—das Implantat mußte also bei ihnen völlig aus dem Auge herausgefallen sein.

Dennoch erzielte ich 9 mal von 37 brauchbaren Operationen, d.h. mit einer Häufigkeit von 24,32% eine positive Linsenbildung aus dem implantierten Stück. *Die Linsenpotenz des Stückes e ist demnach ziemlich gleich groß wie die Stücke c und d.* Die aus dem Implantat gebildeten Linsen lagen bei 6 Fällen (Pe 42, 48, 72, 73, 74, 76) in der

Tabelle e-2: Messungsergebnisse des Linsendurchmessers bei der Serie e.

Fix-Gruppe: (Zahl d. Tage n. d. Oper.)	Nr. des Falles Pe-	Wirtslinse		Implan- tatslinse		Verhältnis L'/L in %
		Stadium	Durch- messer (L)	Stadium	Durch- messer (L')	
17	80	9	290 ^μ	8	202,5 ^μ	69,8
21	71	10	370	9/10	215	58,1
Durchschnitt im ganzen:						63,97

vorderen Kammer, bei einem Fall (Pe 67) zu tief in der hinteren Kammer und nur bei 2 Fällen gerade in der Pupillargegend. Die Regenerationsstadien und die Größe der Linsen bei den letzteren Fällen sind in der Tabelle e-2, S. 41, angegeben.

d. Stück aus der Nachbarschaft von der Austrittsstelle des Opticus---
Serie f. Von den 49 Augen gelang 46 mal die Operation. In der Tabelle f-1 sind die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung zusammengestellt:

Tabelle f-1: Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung bei Serie f.

Fixierungsgruppe: (Zahl d. Tage n. d. Operation)	Insgesamt operiert:	Unbrauchbare Fälle			Brauchbare Fälle								
					Im ganzen	Positive Fälle		Zweifelhafte Fälle	Negative Fälle				
		Im ganzen	Schnitte nicht geglückt	Implantat aus- gestoßen		Im ganzen	In Zahlen		In %	Im ganzen	Veränderung des Implantats:		
											Linse mit beginnend. Faserdiff.	Auflockerung; Unvollkom. Depigm.	Keine Depigm.; Degeneration
17	9	1	—	1	8	1	12,50	0	7	—	3	4	
21	11	4	2	2	7	1	14,29	0	6	—	—	6	
23	4	1	—	1	3	0	0	0	3	—	—	3	
25	12	2	—	2	10	2	20,00	0	8	—	1	7	
28-30	10	3	2	1	7	0	0	1	6	1	—	5	
Sa.	46	11	4	7	35	4	11,43	1	30	1	4	25	

Das, was oben bezüglich der *Lage und des Verhaltens* des Implantates von der Serie e gesagt wurde, gilt auch für die vorliegende Serie f genau so oder noch in erhöhtem Maße. Bei 25 von 35, d.h. 71,4% der brauchbaren Fällen zerfiel das Implantat, meistens in der vorderen Kammer liegend, in Pigmentzellhaufen oder -Klumpchen. Nur bei 4 Fällen bildete das Stück im ganzen eine Linse, welche wiederum nur bei 2 Fällen in der Pupillargegend, bei je einem Fall in die vordere (Pf 76) oder in die hintere Kammer (Pf 55) verschoben lag. Die *Stadien* und die *Größen* der Regenerate bei den zwei geglückten Experimenten seien in der Tabelle f-2 vorgeführt.

Während bei einem von den beiden Fällen (Pf 62) die Implantatslinse ziemlich groß und ihr Entwicklungsstadium ohne Schwierigkeit zu bestimmen war, zeigte der andere Fall (Pf 50), bei welchem die Implantatslinse viel zu klein war, wiederum eine Abnormität in ihrer Entwicklung, so daß die Stadienbestimmung nicht mit Sicherheit durchzuführen war.

Tabelle f-2: Messungsergebnisse des Linsendurchmessers bei der Serie f.

Fix-Gruppe: (Zahl d. Tage n. d. Oper.)	Nr. des Falles Pf.	Wirtslinse		Implan- tatslinse		Verhältnis L'/L in %	Bemerkungen
		Stadium	Durch- messer (L)	Stadium	Durch- messer (L')		
21	62	>11 ¹⁾	397,5	11/12	305	76,7	¹⁾ Stad. nicht sicher zu bestimmen, da der Faserkern gesprungen.
25	50	11/12	485	10? ²⁾	205	42,3	²⁾ Stad.-Bestimmung nicht sicher, da die Faserdifferenzierung etwas abnorm ist.
Durchschnitt im Ganzen:						59,50	

Zum Schluß des Kapitels seien in Folgenden je ein positiver Fall von den 6 Serien mit Protokollauszügen und kurzer Erläuterung vorgeführt. Ich wähle dabei nicht immer gerade die typischen Beispiele, sondern absichtlich solche, bei denen möglichst viele von den aus einem denselben Auge entnommenen Geschwisterstücken gleichzeitig je eine Linse lieferten.

Experiment 1950, P 89 (Abb. 2, a-d).

12. VII. 1950, 9. 50 Uhr: Beginn der Operation. *Spendertier*: ♂, Schnauzen-After-Länge 52 mm., Stückentnahme rechts.—10.01: Sklera + Cornea weggenommen; 10.09: Chorioidea weggesäubert; 10.19: Pigmentepithel + Iris in einem Streifen abgeschnitten und gleich darauf die Stücke *e* und *f* davon abgeschnitten. 10.25: Stück *f* in das *linke* Auge implantiert, es lag frei in der Pupille. Vom rechten Auge wurde nur die Linse exstirpiert, da das Tier aufgewacht war—*Wirt*: P 89 (4). 10.30: Stück *e* in das *rechte* Auge, tief in die hintere Kammer implantiert; die linke Linse einfach exstirpiert—*Wirt*: P 89 (3). 10.40: Stücke *c* und *d* isoliert. Stück *c* enthielt zuerst die Ora serrata, welche mit Vorsicht weggeschnitten wurde. 10.44: Implantation des Stückes *d* in das *linke* Auge. Das Stück wurde dabei leicht beschädigt und einige Pigmentzellen waren abgefallen. 10.46: Stück *c* wurde sauber und tadellos in das *rechte* Auge des gleichen Tieres implantiert—*Wirt*: P 89 (2). 10.54: Stück *b* abgeschnitten und sofort implantiert in das *linke* Auge. 10.57: Stück *a* sauber in das *rechte* Auge des gleichen Tieres verpflanzt. Stücke *a* und *b* lagen jeweils frei in der Pupille—*Wirt*: P 89 (1). Operationsdauer: 1 St. 07 Min.

4. VIII. (23 Tage nach der Operation): Tier P 89 (1): ♂, Schnauzen-After-Länge: 56 mm. 10.35: *Rechts* (Pa 89)—2 Linsen aufeinander in der Pupille, die untere Linse lag tief in der hinteren Kammer, hatte einen ziemlich großen Pigmentrest auf ihrer vorderen Oberfläche. *Links* (Pb 89)—Ebenso 2 Linsen aufeinander. Die untere Linse lag in der hinteren Kammer, hatte eine querlängliche Ovalform. Der Rest des Implantates haftete auf der kaudalen, vorderen Linsenoberfläche. Das Tier wurde so fixiert.

Tier P 89 (2): ♂, 58 mm lang. 10.58: *Rechts* (Pc 89)—Nur eine Linse allein in der Pupille sichtbar. Sie war ziemlich groß und füllte die Pupille

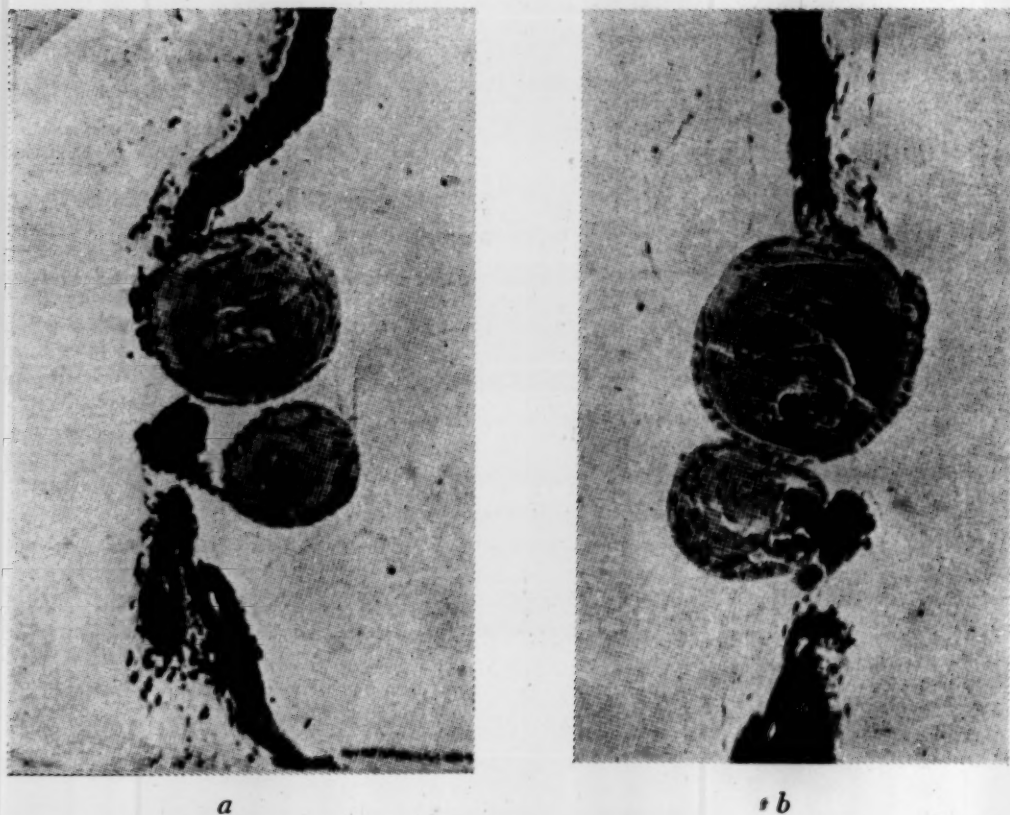


Abb. 2. *a-d*: Experiment 1950, P 89, Hier hatte sich aus den vier Stücken der Iris und des Pigmentepithels des ein und desselben Auges je eine Linse gebildet.

a-b: Experiment 1950, P 89 (1). 23 Tage nach der Operation. $\times 60$.

a. Rechtes Auge: Pa 89. Der Schnitt traf die ventrale Implantatslinse in ihrem kranialen Teil. Sie liegt völlig in der hinteren Kammer isoliert, während der Rest von der implantierten Iris hier in der Mitte der Pupillaröffnung in lockerer Verbindung mit dem Regenerat zu sehen ist.

b. Linkes Auge: Pb 89. Die Wirts- und Implantatslinsen fast in der Mitte getroffen. Große Masse von aufgelockerten und zum Teil sich depigmentierenden Resten des implantierten Stückes ventral im Linsenlumen.

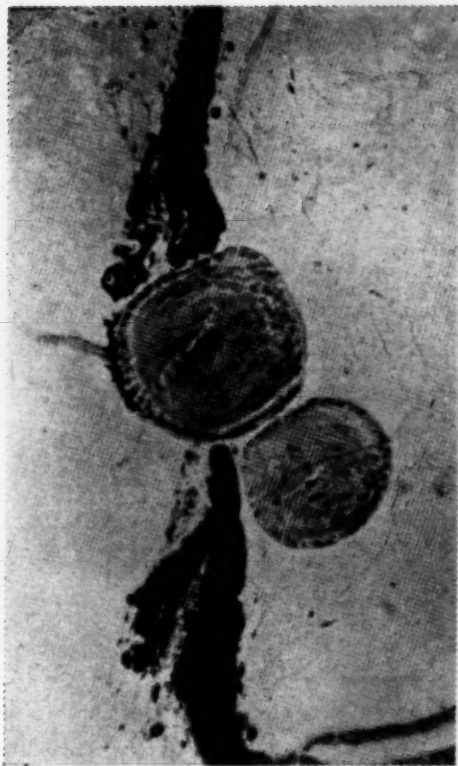
vollständig aus. Das Implantat war durch die Linse hindurch sichtbar, es lag ventral in der hinteren Kammer. *Links (Pd 89)*—In der Pupille war eine Linse, das Wirtsregenerat. Das Implantat war in die vordere Kammer kranial verdrängt und bildete eine kleine Linse. Das Tier ließ ich noch weiter leben, um diese zweite Linse etwas wachsen zu lassen.

Tier P 89 (3): ♂, 54 mm lang. 11.00: *Rechts (Pe 89)*—Nur eine mäßig große Linse wie auf der linken Seite. Einige Pigmentkörner auf der Cornea, sonst kein Implantat. So wurde das Tier fixiert.

Tier P 89 (4): Geschlecht unbeachtet. 53 mm lang. 11.15: *Links (Pf 89)*—Das Implantat war verklumpt und hing an der inneren Corneafäche. Wirtsregenerat gleich groß wie auf der rechten Kontrollseite. Das Tier wurde fixiert.

9. VIII. (28 Tage nach der Operation). 17.05: Tier P 89 (2) wurde konserviert. Auf der linken Seite in der vorderen Kammer war das Regenerat aus dem implantierten Stück *d* deutlicher geworden.

Die *Schnittuntersuchung* bestätigte vollauf die Lebendbeobachtung. Bei den Tieren 3 und 4 sind die Implantate entweder aus dem



c



d

c-d: Experiment 1950, P 89 (2). - 28 Tage nach der Operation $\times 60$.

c. Rechtes Auge: Pc 89. d. Linkes Auge: Pd 89. In den beiden Schnitten sind die ventrale, vom Implantat gebildete Linsen in der Mitte getroffen. Bei c liegt die Implantatslinse völlig in der hinteren Kammer, während sie bei d völlig in der vorderen Kammer verlagert ist.

Auge herausgefallen (*e*), oder in dem Corneagewebe verklumpt, ohne irgendeine Vorstufe zur Linsenbildung zu zeigen (*f*). Dagegen zeigen zwei andere Tiere 1 und 2, wie die Abbildungen erkennen lassen sogar auf den beiden Seiten je zwei Linsen im Auge. Ich glaube, es ist kaum nötig, zu begründen, daß die jeweils ventral liegende Linse aus dem Implantatsstück herstammte. Bei dem Stück *c*, d.h. also am rechten Auge des Tieres 2 vermißte ich die Implantatslinse bei der Lebendbeobachtung; sie lag in Wirklichkeit völlig in der hinteren Kammer verborgen (Abb. 2 *c*).

Im ganzen gelangen mir solche Fälle nur 3 mal, bei denen alle 4 vorderen Sektoren jeweils eine Linse bildeten. 5 mal erzielte ich von 3 Stücken,¹⁾ 21 mal von 2 Stücken²⁾ von den 4 distalen Geschwisterstücken die Linsenbildung. Nur verhältnismäßig selten (13 Fälle)³⁾ kam nur ein einziges Stück von den vier zur Linsenbildung.

¹⁾ Davon 3 mal von Stücken *a*, *b*, *c*; 2 mal von den Stücken *a*, *b* und *d*.

²⁾ Am meisten von den Stücken *a* und *b* (15 mal). Aber es gab auch Fälle und zwar 2 mal von den Stücken *a* und *c*, 3 mal von *a* und *d*, einmal nur von *c* und *d* allein.

³⁾ 11 mal nur aus dem Stück *a*, 2 mal nur aus dem Stück *b*.



e



f

Abb. 3. *Experiment* 1950, P 76. 17 Tage nach der Operation. $\times 60$.

e. Rechtes Auge: Pe 76. f. Linkes Auge: Pf 76. Die Implantatlinsen in beiden Bildern im Sagittalschnitt. Wirtslinse in f ist kranial angeschnitten. Implantatlinsen vollkommen in den vorderen Kammern, besitzen Pigmentklümpchen in ihren Linsenlumen. Die Implantate in e und f sind aus demselben Auge entnommen.

Experiment 1950, P 76 (Abb. 3, e und f).

8. VII. 1950, 10.02: Beginn der Operation. *Spendertier*: ♂, Körperlänge nicht gemessen. Stückentnahme aus dem linken Auge (Das rechte Auge wurde vorher für das Experiment P 75 zur Entnahme vom Pigmentepithel verwendet) —10.30: Stück f abgeschnitten und sofort ins *linke* Auge des Wirtstieres implantiert. Die Wirtslinse ließ sich dabei nicht leicht exstirpieren, die Retina hatte sich wohl daher gefaltet. Das Implantat lag nicht tief aber sicher in der Pupille, vielleicht zusammengefoldet. 10.36: Stück e ins *rechte* Auge desselben Tieres. Operation verlief sehr sauber; das Implantat lag frei in der hinteren Kammer.

25. VII. (17 Tage nach der Operation) Das *Wirtstier*: ♂, Schnauzen-After-Länge: 54 mm. 13.02: Das Tier wurde fixiert. Dabei waren die Befunde wie folgt: *Rechts* (Pe 76)—Die Pupille in ihrem ganzen Umriß unsauber. Am dorsalen Irisrand war eine halbkugelige Linse sichtbar. In der vorderen Kammer lag eine längliche ovale Masse ein wenig schief-horizontal. Diese Masse war weißlich trübe, vielleicht eine junge Linse aus dem Implantat. *Links* (Pf 76)—Fast genau das gleiche wie beim rechten Auge.

Wie die Abbildungen e und f zeigen, stellte es sich bei der *mikroskopischen Untersuchung* heraus, daß die fragliche weißliche Masse in der vorderen Kammer in den beiden Augen wirklich eine

Linse darstellt. Die beiden Implantatslinsen liegen vollständig isoliert in den vorderen Kammern und stehen daher in ihrer Faserdifferenzierung weit den Wirtslinsen nach. Die in den Hohlräumen zwischen Linsenepithel und Faermasse eingeschlossenen Pigmentreste bieten zweifelsfreie Beweise dafür, daß diese Linsen aus den implantierten Stücken entstanden sind.

Gerade die eben geschilderten Fälle sind *hinsichtlich der Lage des Implantates typisch* für die Serien mit den proximalen Entnahmestücken. Hinsichtlich der Linsenbildung aus dem Implantat stellt sich aber dieses Beispiel, wie bereits erwähnt, vielmehr als einen glücklichen Zufall dar; bei den allermeisten Fällen zerfielen so oft das eine oder das andere oder die beiden Stücke aus dem gleichen Auge in der nämlichen Lage, also in der vorderen Kammer, vollständig, so daß ich diesen Fall als den Einzigen¹⁾ im ganzen vorführen kann, bei welchem die Linsenbildung von den beiden proximalen Geschwisterstücken aus gleichzeitig erzielt wurde.

Zuletzt möchte ich noch ein Bild vorführen um zu zeigen, wie vollkommen jedoch die Linse aus dem Pigmentepithelstück aus der proximalen Augengegend gebildet wird, wenn das Implantat in der bezweckten Stelle in der hinteren Kammer erhalten blieb (Abb. 4). Der Schnitt ging hier (bei Pe 71) zwei Linsenregeneraten fast durch ihre Mitte hindurch. Die obere, von der Wirtsiris stammende Linse hat einen Durchmesser von $370\ \mu$ im Durchschnitt in drei Richtungen. Die untere, aus dem Implantat gebildete Linse ist deutlich kleiner als die obere, hat einen Durchmesser von $215\ \mu$ im Durchschnitt (s. Tabelle e-2). Sie hat ein wenig jüngeres Aussehen, ist aber sonst in



Abb. 4. *Experiment 1950, Pe 71.* 21 Tage nach der Operation. $\times 60$.

Die beiden Linsen im Sagittalschnitt.

¹⁾ Noch bei einem anderen Fall (*Experiment 1950, P 71*) gelang mir nach den Lebendbeobachtung und -Skizze die gleichzeitige Linsenbildung aus den Stücken e und f. Aus dem linken, mit dem f-Stück versehenen Auge fielen die Linsen rettungslos bei der Schnittherstellung heraus, sodaß das Auge leider von der Bearbeitung ausgeschlossen werden mußte. Das rechte Auge mit dem Geschwisterstück e ist in der Abb. 4 vorgeführt.

allen Einzelheiten in Form und Struktur vollkommen normal. Das Implantat liegt bei diesem Fall ein wenig kranialwärts in der Pupille und hängt an der ventralen Seite mit dem Regenerat zusammen.

IV. Zusammengefasste Übersicht und Erörterung der Ergebnisse.

A. Vergleich der Häufigkeit der Linsenbildung von verschiedenen Stücken.

In Abb. 5 sind die durchschnittlichen *Häufigkeitswerte* der positiven Linsenbildung aus den Implantaten von 6 verschiedenen Bezirken graphisch dargestellt (s. dicke vollgezogene Linie, vergleiche Tabelle a-f(1)). Auf der Abszisse ist die Strecke zwischen dem Pupillarrande und der Austrittsstelle des Sehnervens in beliebig gewählter Länge aufgetragen. Auf der Ordinate sind außerdem noch die maximalen und

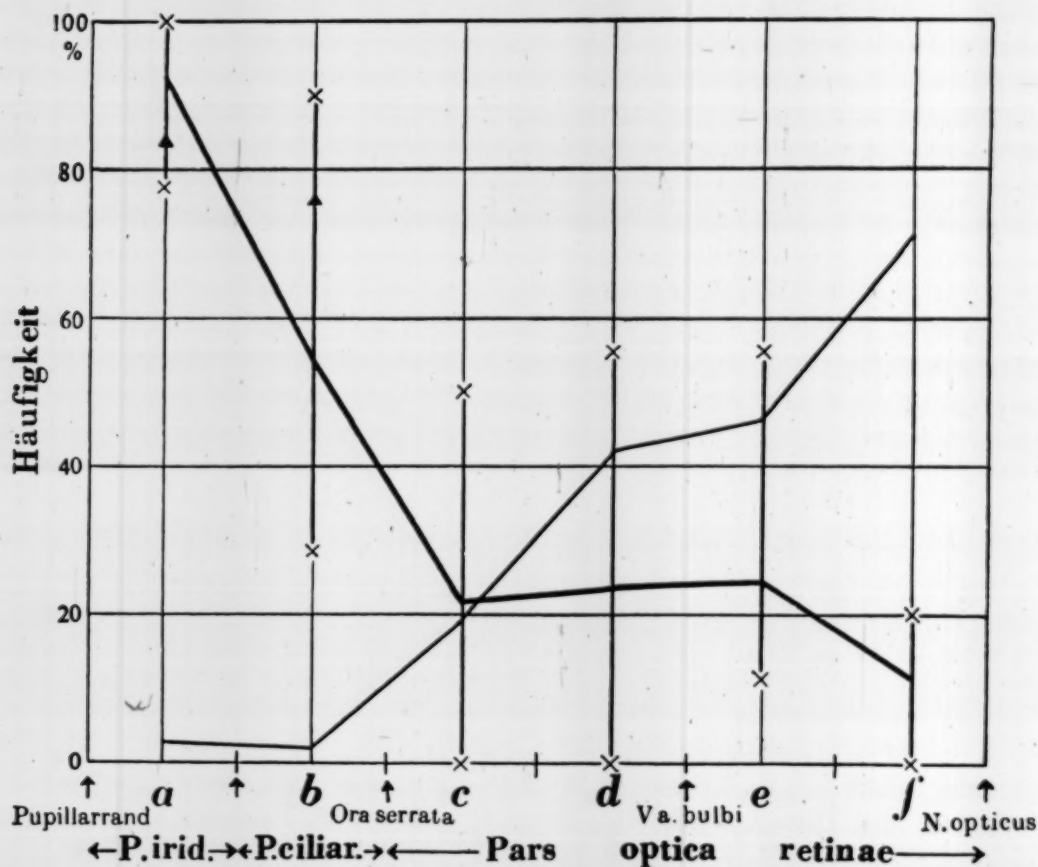


Abb. 5. Graphische Darstellung der Häufigkeit von Linsenbildung (dicke vollgezogene Linie) und vom degenerativen Zerfall des Implantates (dünne vollgezogene Linie) aus verschiedenen Augenbezirken.

minimalen Häufigkeitswerte bei der jeweiligen Fixierungsgruppen mit Kreuzchen \times angegeben. Schwarze Dreieckchen auf den Ordinaten von *a* und *b* zeigen die durchschnittlichen Werte der entsprechenden Versuchen MIKAMIS.

Es darf natürlich der so aufgestellten Kurve und den einzelnen Häufigkeitswerten nicht viel Gewicht beigelegt werden. Doch kann man von dem ganzen Verlauf der Kurve mindestens folgende Punkte *als wesentlich* herausgreifen: 1.) Die Linsenbildung geschieht am häufigsten, wenn das Implantat aus dem Rand der dorsalen Iris (Bezirk *a*) entnommen wird. Das aus dem Basalteil der Iris (Bezirk *b*) geschnittene Stückchen kann etwas seltener, aber immerhin sehr oft eine Linse bilden. Der Versuch von MIKAMI (1941) fand hiermit eine volle Bestätigung. 2.) Die Stücke aus dem Bereich der eigentlichen Retina, d.h. von der Gegend der Ora serrata bis zum 3/4 Bulbusumfang (Strecke *c-e*), können seltener aber in ziemlich gleich bleibender Häufigkeit eine Linse bilden. 3.) Das aus dem weiter proximal gelegenen Teil abgeschnittene Pigmentepithelstück bildet nur sehr selten eine Linse (Strecke *f*).

B. Vergleich der Entwicklung der Regenerate aus verschiedenen Stücken.

Über die Entwicklung der Regenerate sind bereits oben gelegentlich der Einzeldarstellung der Ergebnisse einige vergleichende Bemerkungen gemacht worden. Wir haben dabei hauptsächlich auf die Größenverhältnisse zwischen den Wirts- und Implantatslinsen aufmerksam gemacht, ohne jedoch auf die Frage hinsichtlich der *Geschwindigkeit der Differenzierung und des Wachstums* der gebildeten Linsen einzugehen. Zu diesem Zweck sind in der Tabelle *g* die sämtlichen Daten in den Tabellen *a-f* (2) so umgestellt bzw. umgerechnet, daß man dadurch eine allgemeine Übersicht erlangen kann sowohl über die Variabilität des *Zeitpunktes*, in welchem die einzelnen Regenerationsstadien erreicht wurden, sowie über die Variabilität der *Durchmesserlänge* der Linsen aus den verschiedenen Mutterböden in den betreffenden Stadien. Tabelle *g* enthält daher auch die einander widersprechenden Daten, die sicher auf leider zu geringen Materialzahlen zurückzuführen sind. Die hier angegebenen Daten sind von den Regeneraten gewonnen worden, welche alle mit wenigen Ausnahmen (mit * vermerkt) ziemlich normal im Bezug auf ihre innere Struktur sind und die alle unter den gleichen Bedingungen in der Pupillargegend der Augenkammer entstanden sind.

Vergleichen wir zuerst die Rubriken „*Zahl der Tage nach der Operation*“ (Rubriken 1, 4, 7, 10, 12, 14, 16) miteinander, so bekommt man zwanglos den Eindruck, daß 1.) *die Implantatslinsen bei allen Versuchsserien mit ziemlich gleichem oder ein wenig langsamerem Tempo die gleichen Entwicklungsstufen durchlaufen wie die Wirtslinsen*. Gegen diesen ersten Punkt spricht nur ein einziger Fall (mit * vermerkt), bei welchem die Differenzierung der Implantatslinse etwas schneller vonstatten ging als die der Wirtslinse. 2.) *Der Grad der allgemeinen Verzögerung der Differenzierung der Implantatslinsen gegenüber derjenigen der Wirtslinsen ist bei der Serie a etwas kleiner als bei allen anderen Serien (b-f)*, bei welchen der Grad der Verzögerung ja von Fall zu Fall verschieden ist, aber immerhin innerhalb einer gewissen Grenze

Tabelle g. Übersicht über die Länge des Regeneratsdurchmessers
Regenerationsstadien erreicht

Regenerations- Stadium	Wirtslinse			Implantats-					
	(1) Zahl d. Tage n. der Oper.	Durchmesser		(4) Zahl d. Tage n. der Oper.	Serie a		(7) Zahl d. Tage n. der Oper.	Serie b	
		(2) Schwankungen zwischen (μ)	(3) Durch- schnitt(w) (μ)		Durchmesser			Durchmesser	
					(5) Schwankungen zwischen (μ)	(6) Durchschnitt (μ) u. sein Verhältnis zu w. (%)		(8) Schwankungen zwischen (μ)	(9) Durchschnitt (μ) u. sein Verhältnis zu w. (%)
7/8									
8				17	—	{ 270 —	17	—	{ 175 64,8 ^②
8/9				17	—	{ 295 —			
9(-)	21	—	325	30*	—	{ 145* 44,6			
9	17	267,5-375	322,1(7) ^①	17	280-347,5	{ 306,3(4) 95,1	25	—	{ 180 55,9
9/10	17-21	302,5-340	321,3(2)	21	—	{ 277,5 86,4	23†	—	{ 280 87,1†
10	21-23	350-425	393,3(6)	23-30	300-325	{ 312,5(2) 79,5	21-30 [†]	235-415	{ 321,7(3) 81,8†
10/11	21	325-417,5	371,3(2)	22	—	{ 355 95,6			
11(-)	25	—	445	25	—	{ 450 101,1			
11	21-30	317,5-535	440,2(16)	21-30	337,5-455	{ 392,3(14) 89,1	25	—	{ 292,5 66,4
11/12	25	—	485						
12	25-30	395-555	469(5)	25	415-445	{ 430(2) 91,7	25-30	365-377,5	{ 371,3(2) 79,2
12/13							30	—	{ 440 —
13	30	425-520	470(4)						

① Die Zahlen in den Klammern bedeuten die Zahlen der Fälle mit gelungener Messung. Die Durchschnittslänge des Regeneratsdurchmessers wurde jeweils damit berechnet.

ziemlich gleich bleibt. Es besteht also kein wesentlicher Unterschied, etwa im Sinne eines Gefälles, in den Geschwindigkeiten der Linsendifferenzierung hinsichtlich der verschiedenen Entnahmebereiche des Implantates.

Vergleichen wir zunächst die Durchmesserlänge der Regenerate miteinander (Rubriken 3, 6, 9, 11, 13, 15, 17). Auch hier sind die Implantatslinsen der Serie a fast gleich groß wie die Wirtslinsen in jeden

und die Variabilität des Zeitpunktes, in dem die einzelnen wurden.

linse								Bemerkungen
Serie c		Serie d		Serie e		Serie f		
(10) Zahl d. Tage n. der Oper.	(11) Durchmesser (μ) u. sein Verhältnis zu w. (%)	(12) Zahl d. Tage n. der Oper.	(13) Durchmesser (μ) u. sein Verhältnis zu w. (%)	(14) Zahl d. Tage n. der Oper.	(15) Durchmesser (μ) u. sein Verhältnis zu w. (%)	(16) Zahl d. Tage n. der Oper.	(17) Durchmesser (μ) u. sein Verhältnis zu w. (%)	
		21*	{130* —					*) Pd-31; Stad. 7/8?
21	{215 79,6			17	{202,5 75,0			
		21	{185 62,7					
								*) Pa-15; Stad. 9? Bei der Durchschnittsberechnung ausgeschlossen ¹⁾
		21	{232,5 72,4	21	{215 66,9			
						25*	{205* 52,1	*) Pf-50; Stad. 10?
						21**	{305 62,9	
30†	{500† —							

② Zahlen im *Kursivdruck* bedeuten die Längenverhältnisse des Durchmessers der Regeneratslinsen im Vergleich mit derjenigen der Serie a in %.

einzelnen Entwicklungsstadien. Das Verhältnis des Durchmessers der Implantatslinsen zu demjenigen der Wirtslinsen beträgt bei der Serie a durchschnittlich 97,59%.¹⁾

Bei den Serien b und c kommen noch einige Fälle vor, bei denen die Durchmesserlänge der Implantatslinse ungefähr 80% oder etwas mehr derjenigen der Wirtslinse erreicht hat (mit † gekennzeichnet in der Tabelle g). Bei allen restlichen Fällen der eben erwähnten

¹⁾ Unter Weglassung eines einzigen Falles von Pa 15, s. Tabelle g, „Bemerkungen“.

Serien, sowie *bei allen anderen Versuchsserien (d-f)* sind die Implantatslinsen *ausnahmslos bedeutend kleiner als die in entsprechenden Stadien befindlichen Wirtslinsen* bzw. als die Linsen aus dem Stück *a*. Die Verhältnisse der Durchmesserlänge der Implantatslinsen zu derjenigen der Linsen aus dem Stück *a* bzw. aus dem Wirtsauge sind im Durchschnitt wie folgt:

Bei der Serie <i>b</i> :	72,53%,
" " "	<i>c</i> : 79,6 %,
" " "	<i>d</i> : 67,55%,
" " "	<i>e</i> : 70,93%,
" " "	<i>f</i> : 57,5 %.

Wir sehen also, daß die Implantatslinsen aus den Stücken von *b* bis *f* gegenüber denjenigen aus dem Stück *a* eine unzweifelhafte *Wachstumsverhinderung* aufweisen. Soviel wir aus den eben ausgerechneten Durchschnittswerten erkennen, verhalten sich jedoch die Implantatslinsen von den Serien *b*, *c*, *d*, und *e*, d.h. also die Linsen, die aus den Stückchen entstanden sind, welche aus dem Teil des Pigmentepithels, der sich von der Iriswurzel bis ungefähr $\frac{3}{4}$ des Bulbusumfanges erstreckt, entnommen worden sind, *hinsichtlich der Wachstumsverhinderung alle miteinander ziemlich ähnlich*; nur bei den Linsen von der Serie *f*, d.h. bei den Linsen aus dem Pigmentepithelstück, welches ganz nah an der Sehnervenwurzel abgeschnitten worden ist, scheint ihr Größenwachstum besonders stark verhindert zu sein. Die Entscheidung der Frage, ob hier, nämlich in der Strecke *b-f*, ein etwa in der distalproximalen Richtung abnehmendes Gefälle im Größenwachstum wirklich besteht, möchte ich dahin gestellt sein lassen, weil die Zahl unserer Versuche dafür viel zu gering ist.

Wichtig ist für uns auf jeden Fall die Einsicht, die aus den zweifachen Vergleichen der Daten der Tabelle *g* gewonnen worden ist, nämlich daß bei den Linsen, die aus den Stückchen entstanden sind, welche aus *einer* Lage Pigmentepithelzellen bestehen, die Differenzierung der inneren Struktur im allgemeinen *mit gleicher Geschwindigkeit* fortschreitet wie bei den Linsen, welche aus dem Randstückchen der Iris entstanden sind, wo das Pigmentepithel *zweischichtig* geworden ist; aber das Größenwachstum geht mit der histologischen Differenzierung nicht parallel. Der bei der Einzeldarstellung oftmals erwähnte Befund, daß die Implantatslinse kleiner als die Wirtslinse ist, kommt deshalb nicht einfach daher, daß die Implantatslinse überhaupt „jünger“ ist, sondern daß sie nur im Wachstum langsamer ist als die Wirtslinse; die Differenzierung selbst ist bei beiden Linsen fast gleich schnell fortschreitet. Sie sind, mit anderen Worten, beide „gleich alt“, nur wächst eine aber nicht so stark wie die andere.

Da nun das Größenwachstum einer Linse hauptsächlich durch die ständige Zunahme der Hauptfassen bedingt ist, welche durch die

Umbildung der Zellen an der Epithelgrenze nacheinander geliefert werden und welche, sich konzentrisch anordnend, den Faserkern umhüllen, so hängt daher das Wachstum letzten Endes von der *Quantität der Anlagezellen*, d.h. der sich depigmentierenden Epithelzellen ab. Unser obiger Befund, daß das Stück *a* eine Sonderstellung gegenüber allen anderen Stücken einnimmt insofern, daß die Linse aus dem Stück *a* viel vollkommener heranwächst als die Linsen aus den anderen Stücken, stimmt wohl mit der Tatsache überein, daß das Stück *a* aus doppelt so viel Pigmentzellen besteht als das Stück der anderen Serien.

C. Über die Linsenpotenz des Pigmentepithels in verschiedenen Teilen des dorsalen Bulbusbereiches.

Die Häufigkeitskurve der Linsenbildung (Abb. 5, S. 48) deutet darauf hin, daß ein Potenzgefälle hinsichtlich der Linsenbildung im Iris- und Pigmentepithel besteht, ein Gefälle, welches am Irisrande am höchsten ist und nach proximalwärts zum Augenboden hin nachläßt.

Hier erhebt sich die Frage: Ob diese Potenzgefälle wirklich durch die *an sich verschiedenen Linsenpotenz der Zellen* der Irisblättern bzw. des Pigmentepithels in den verschiedenen Teilen des dorsalen Bulbusbereiches, oder aber nur einfach durch *verschiedene histologische Ausstattungen der an sich potentiell gleichwertigen Zellen*, oder aber durch die beiden Möglichkeiten zugleich bedingt ist?

Die *erste Möglichkeit* ist durchaus nicht von vornherein von der Hand zu weisen; dafür sind nämlich besondere experimentelle Prüfungen notwendig, welche vor allem darin bestehen sollten, daß man das dorsale Irisstück abschneidet und es in einzelne Blätter zerspaltet und das so gespaltete äußere und innere Irisblatt, ebenso wie hier, einzeln ins linsenlose Auge implantiert, und die Häufigkeit der daraus erfolgten Linsenbildung mit den Ergebnissen des diesmaligen Versuches vergleicht.

Wie auch die Ergebnisse solcher oder ähnlicher Versuche ausfallen würden, so ist die *zweite Möglichkeit jetzt schon als sicher* zu bezeichnen. Wir haben gesehen, daß der morphologische *Vollkommenheitsgrad* einer regenerierten Linse letzten Endes von den Materialmengen der dafür brauchbaren Zellen abhängt und die günstige Materiallieferung durch den festeren *Zellverband des Epithels* gewährleistet ist. *Ebenfalls von denselben Umständen hängt auch der Häufigkeitsgrad der Linsenbildung ab.* Je fester der Zellverband, desto häufiger wird eine Linse von dem Stück gebildet.

Um die Sachlage weiter zu ergründen, sind die völlig negativ ausgefallenen Operationen zu berücksichtigen. Wir sahen oben, daß die Implantatstücke von dem proximalen Bereiche sich sehr oft in strukturlose Pigmentklümpchen auflösen, ohne eine Linse zu bilden. In Abb. 5 (S. 48) ist die prozentuale Häufigkeit solcher *degenerativen Erscheinungen* bei den sechs Versuchsserien kurvenmäßig

miteingetragen (dünne vollgezogene Linie). Bei den Irisstücken *a* und *b*, wo das Epithel einen festen Zellverband besitzt, kommt die Degeneration nur selten vor (bei der Serie *a*: $1/42=2,44\%$; bei der Serie *b*: $1/46=2,17\%$ der brauchbaren Fälle). Bei dem Stück *c*, bei welchem die mitgenommene Chorioidea der Glashaut des Pigmentepithels etwas Festigkeit gibt, kommen die Fälle von Degeneration 8 mal von den 41, d.h. $19,51\%$ der brauchbaren Operationen vor. Die Kurve zeigt dann einen bedeutsamen Aufstieg in der Gegend von *d* ($16/38=42,1\%$) und erreicht das Maximum in der Gegend von *f* mit einer Häufigkeit von $25/35=71,43\%$. Die degenerative Zerfallserscheinung des Implantates kommt demnach häufiger in den Fällen vor, wo das Stück leichter seinen Zellverband verliert, und es ist klar, daß ein fester Epithelverband eine wohlgeordnete Zusammenarbeit der Zellen ermöglicht und erleichtert, wie es gerade hier für die Formbildung einer Linse einer der wichtigsten Vorbedingungen ist.

Außerdem braucht man wohl kaum zu ergründen, daß das Stückchen mit mehr Zellmaterial mehr Gelegenheit zur Linsenbildung hat wie das Stückchen mit wenigem Material. Das aus zwei in seinem Zellverband gut gesicherten Epithellagen bestehende pupillare Irisstück, welches wohl doppelt so viel Zellen enthält als das gleich große Stück vom einschichtigen Pigmentepithel, kann doppelt so oft eine Linse bilden, was wirklich der Fall zu sein scheint, selbst dann, wenn man dem Irisblatt das Vorhandensein einer besonders hohen inhärenten Potenz *nicht* zuschreibt. Auch das mehrfache Auftreten der überschüssigen epithelialen Blasenbildung außer einer Linse oder der mehrzähligen Linsenbildung aus einem Irisstück beweist zur Genüge das eben gesagte.

D. Über das Moment der Linsenbildung aus dem Pigmentepithel.

Unser Versuch zeigt, daß das Pigmentepithel von *Diemyctylus pyrrhogaster* noch in ausgewachsenem Zustand die Fähigkeit besitzt, sich in eine Linse umzubilden. Diese Fähigkeit kann er aber nur erst dann entfalten, wenn das Epithel *isoliert und in die hintere Augenkammer transplantiert*, d.h. unter den Einfluß der linseninduzierenden Wirkung von der Retina gebracht wird. *In situ* bildet sich das Pigmentepithel bekanntlich eine neue Retina, wenn dem Auge die ganze Retina beraubt war, und die Linse wird erst nach Wiederherstellung der Netzhaut von dem dorsalen Irisrande aus regeneriert (WACHS 1920 bei *Triton*-Larven, SATO und HASEGAWA 1950 bei ausgewachsenem *Diemyctylus*. STONE 1950a bei ausgewachsenem *Triturus viridescens*, u.a.m.). Diese merkwürdige Fähigkeit des Pigmentepithels eine neue Retina zu bilden, wurde vor Kurzem von L. S. STONE (1950a, S. 19-21) in eleganter Weise nachgeprüft, indem er das dorsale bzw. laterale *Pigmentepithel ohne Retina aber samt der Chorioidea und Sclera* ausgeschnitten und in die hintere Augenkammer implantierte. Das so implantierte Pigmentepithel hat sich depigmentiert, es wucherte und

differenzierte sich *in die Retina,—aber nicht in die Linse!*

Was bedingt nun die Entfaltung der Fähigkeit vom Pigmentepithel, einmal eine Linse und andersmal eine Retina zu bilden? Angesichts der bekannten Tatsache, daß die Retina einen sehr hohen, die Linse dagegen einen äußerst niedrigen Stoffwechselumsatz, z. B. Atmungs- und Glykolysekoeffizienten zeigt, scheint es mir sehr wahrscheinlich, daß der jeweilige *Ernährungszustand* des Epithels eine entscheidende Rolle dabei spielt. Wohl unterlagert von Chorioidea und Sclera bildet sich das Pigmentepithel in die Retina um, im bloßgelegten Zustande aber kann das Epithel nicht mehr eine Retina, sondern nur eine Linse bilden. Darin findet wohl auch der am Eingang dieser vorliegenden Arbeit in Frage gestellte Befund OKADA's, daß die Linsenbildung aus der Bulbuswand bei der Wundsetzung im Bereich hinter der Ora serrata unterbleibt (S. 23), seine Erklärung.

Ferner sahen wir oben, daß die Retinabildung aus dem Pigmentepithel im Auge ohne Retina geschieht (nach der totalen Retinaexstirpation), aber auch dort, wo die Retina intakt zurückblieb (beim STONEschen Implantationsversuch). Zur Retinabildung ist demnach ganz gleichgültig, ob im Auge die Retina vorhanden ist oder fehlt. Dagegen ist für die Linsenbildung aus dem Pigmentepithel das Vorhandensein des Einflusses seitens der Retina unbedingt notwendig. Denn das Pigmentepithel, das aus Embryonen oder Junglarven entnommen worden war, bildet sich nicht in eine Linse um, sondern bildet eine Retinamasse, wenn es in andere Körperteile, z.B. in die Nähe vom Ohrlabyrinth verpflanzt wird (N. DRAGOMIROW 1932, 1933, 1936 bei *Triton* und *Pelobates*, Y. IKEDA 1937 bei *Hynobius*).

V. Zusammenfassung.

Es wurde ein Streifen von der Iris und dem Pigmentepithel aus dem Auge von *Diemyctylus pyrrhogaster* entlang der dorsalen Mittellinie ausgeschnitten und in sechs Stückchen von gleicher Größe geteilt (Abb. 1). Einzelne Stückchen wurden dann in die hintere Kammer eines anderen Auges implantiert, von welchem vorher seine Linse exstirpiert worden war.

Mit verschiedener Häufigkeit regenerierten die implantierten Stückchen Linsen je nach dem, von welchem Bereich die Implantate abstammten (Abb. 5).

Sowohl betreffend der *Häufigkeit*, als auch der *morphologischen Vollkommenheit* der gebildeten Linsen, verhalten sich die mittleren Stücke des retinalen Pigmentepithels (Stück *d* und *e*) miteinander ähnlich. Das aus der Nähe von N. opticus-Austritt entnommene Stück (*f*) liefert eine ebenso gut entwickelte Linse wie die mittleren Stücke, aber viel seltener. Dagegen bildet das aus dem distalwärts gelegenen Bereich entnommene Stück (*c*) fast mit gleicher Häufigkeit wie die

mittleren Stücke eine Linse, aber mit einer etwas höheren Vollkommenheit. Im Bereich der echten Retina scheint demnach im Pigmentepithel eine Potenzgefälle in der distal-proximalen Richtung zu bestehen.

Im *Bereich der Iris* ist die *Häufigkeit der Linsenbildung* besonders im Pupillarrande am höchsten und nimmt nach dem basalen Teil hin etwas ab. Ebenso sind die Linsen aus dem Irisrande in *Form und Struktur* am schönsten entwickelt.

Die *Ursache* der Verschiedenheit in der Häufigkeit und in der morphologischen Vollkommenheit der Linsenregenerate ist hauptsächlich auf die ungleichen histologisch-anatomischen Verhältnisse des Pigmentepithels zurückzuführen.

Pri la Kapablo Lensformiĝa de Pigmentepitelio en *Diemyctylus pyrrhogaster*¹⁾

El okulo de matura *D. pyrrhogaster*, laŭlonge de dorsa mezlinio, estas eltranĉita striforma peco de iriso kaj pigmentepitelio. La peco estas dividita en ses egalajn partojn, ĉiu el kiuj estas respektive transplantita en la malantaŭan ĉambron de alia okulo, kies lenso estis antaŭe elradikita. Lenso ekformiĝas tie el la peceto enplantita.

1) Ofteco de la lensformiĝado dependas sur tio, ke de kiu regiono la peceto devenis. Du mezaj pecetoj (pecetoj *d* kaj *e*, vidu fig. 1) kondukas tute simile unu la alian koncerne ne nur al ofteco de lensformiĝado sed ankaŭ al morfologia perfekteco de formitaj lensoj. El peceto al *N. opticus* (peceto *f*) formiĝas lenso tiom same perfekta morfologie kiom ni spertas ĉe la mezaj pecetoj suprediritaj, sed nur malpli ofte la formiĝado okazas. Kontraŭe, la peco el la malproksima regiono (*c*) lensformiĝas kun preskaŭ sama ofteco kiel ĉe la mezaj pecoj, sed kun pli alta perfekteco. Ĉe la propra retino, tiel, ŝajnas ekzisti en la regiono de pigmentepitelio unu potenckliniĝo kuranta de la malproksima parto al la proksima.

En la iriso-regiono, la plej bonefika lensformiĝado estas trovita precipe ĉe la pupilrando kaj la parto ju pli proksima al la baza parto havas des malpli grandan kapablecon lenformiĝi. Tiel el la irisando lenso estas formata la plej ofte kaj la plej bele en formo kaj strukturo.

La diferencoj en la ofteco kaj en la morfologia perfekteco de lensformiĝado estus atribuataj ĉefe al neegaleco kiu troviĝus probable en histologiaj kaj anatomiaj situacioj de diversaj partoj de la pigmentepitelio.

Literaturverzeichnis.

(Die mit * angegebenen Arbeiten waren mir nicht im Original zugänglich.)

*BLUMENBACH, J. F. 1787: Specimen physiologiae comparativae inter animantia calidi et frigidi sanguinis. Comment. soc. reg. scient. Göttingen, 8, 95 ff. — *BONNET, CH. 1781: Sur les reproduction des Salamandres. In: Oeuvres d'Histoire

¹⁾ Por esperantigi tiun ĉi resumon mi ŝuldas multe je Asistprof. YUKITO OOTA, al kiu mi dankas kore.

- naturelle et de philosophie, 5, I. Partie, 356. Neuchâtel. — *COLUCCI, V. L. 1891: Sulla rigenerazione parziale dell'occhio nei Tritoni. Istogenesi e sviluppo. Mem. della R. Accad. Sci. Ist. Bologna. Ser. 5, 1, 593-629. — DRAGOMIROW, N. 1932: Über Entwicklung von Augenbechern aus transplantierten Stückchen des embryonalen Tapetums. W. ROUX' Arch. f. Entw.-Mech. d. Org. 126, 636-662. — DRAGOMIROW, N. 1933: Über Koordination der Teilprozesse in der embryonalen Morphogenese des Augenbechers. Ebenda 129, 522-560. — DRAGOMIROW, N. 1936: Über Induktion sekundärer Retina im transplantierten Augenbecher bei *Triton* und *Pelobates*. Ebenda 134, 716-737. — FISCHER, A. 1900: Über die Regeneration der Linse. Anat. Hefte 44, 1-255. — IKEDA, Y. 1937: Über die Bildung akzessorischer Retina aus dem Tapetum bei *Hynobius*. W. ROUX' Arch. f. Entw.-Mech. d. Org. 136, 676-680. — KESSELYÁK, A. 1936: Beiträge zur Kenntnis der Auslösfaktoren der WOLFF'schen Linsenregeneration. Ebenda 134, 331-347. — MANGOLD, O. 1931: Das Determinationsproblem. III. Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration. Erg. d. Biol. 7, 193-403. — MIKAMI, Y. 1937: Beiträge zur Analyse der Linsenregeneration I. Über die Linsenpotenzgefälle an der Iris. Botany and Zoology, 5, 75-79. (In Japanisch). — MIKAMI, Y. 1941: Experimental analysis of the WOLFFian lens-regeneration in adult newt, *Triturus pyrrhogaster*. Jap. Journ. Zool. 9, 269-302. — OKADA, Y. K. 1935: The lenspotency posterior to the iris (A contribution to the regeneration of amphibian lens). Proc. Imp. Acad. (Japan) 11, 115-118. — PETERSEN, H. 1921: Bildung einer überzähligen Linse bei *Rana temporaria*. Arch. f. Entw.-Mech. d. Org. 47, 239-248. — *PHILIPPEAUX 1880: Note sur la reproduction de l'oeil chez la salamandre aquatique. Gazette med. de Paris, Sér. 6, 2, (No. 34), 453. — SATO, T. 1930: Beiträge zur Analyse der WOLFF'schen Linsenregeneration, I. W. ROUX' Arch. f. Entw.-Mech. d. Org. 122, 451-493. — SATO, T. 1933: Beiträge zur Analyse der WOLFF'schen Linsenregeneration. II. Ebenda 130, 19-78. — SATO, T. 1940: Vergleichende Studien über die Geschwindigkeit der WOLFF'schen Linsenregeneration bei *Triton taeniatus* und bei *Diemyctylus pyrrhogaster*. Ebenda 140, 570-613. — SATO, T. und HASEGAWA, M. 1950: Über die Restitution des Wirbeltierauges (Vorläuf. Mitt. in Japanisch). Zool. Mag. (Tōkyō), 59, 55. — *STONE, L. S. and VULTEE, J. H. 1949: Inhibition and release of lens-regeneration in the dorsal iris of *Triturus v. viridescens*. Anat. Rec. 103, 144-145(?) — STONE, L. S. 1950 a: The role of retinal pigment cells in regenerating neural retinae of adult salamander eyes. J. Exp. Zool. 113, 9-32. — STONE, L. S. 1950 b: Regeneration of neural retina and lens from pigment cells in the eyes of adult salamanders. Zoologica, Sci. Contrib. New York Zool. Soc. 35, Part 1, Proc. 2nd. Conference on the Biology of Normal and Atypical Pigment Cell Growth (Nov. 1949), 23-24. — WACHS, H. 1914: Neue Versuche zur WOLFF'schen Linsenregeneration. Arch. f. Entw.-Mech. d. Org. 39, 384-451. — WACHS, H. 1920: Restitution des Auges nach Exstirpation von Retina und Linse bei Tritonen. (Neue Versuche zur WOLFF'schen Linsenregeneration, II. Teil) Arch. f. Entw.-Mech. d. Org. 46, 328-390.